

Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT FÜR ZELLFORSCHUNG UND MIKROSKOPISCHE ANATOMIE

HERAUSGEGEBEN UND REDIGIERT VON

W. BARGMANN
KIEL

B. SCHARRER
NEW YORK

J. SEILER
ZÜRICH

53. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 90 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 10. MÄRZ 1961)



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Z.
Zellforsch.

Preis DM 48.80

Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie

Begründet 1924 unter dem Titel: Zeitschrift für Zellen- und Gewebelehre. Redigiert von R. Goldschmidt und W. von Möllendorff. Bd. 2—28 (1938). Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie. (Bd. 1—20), 1934 als: Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie Abteilung B) herausgegeben von R. Goldschmidt, W. von Möllendorff, H. Bauer, J. Seiler. Bd. 29—33 (1944) Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie Abteilung A. Allgemeine Zellforschung und mikroskopische Anatomie. Herausgegeben und redigiert von W. von Möllendorff und J. Seiler. Berlin, Springer. Bd. 34—35 (1948—1950) Springer, Wien, ab Bd. 36 Springer, Berlin, ab Bd. 34 ohne den Untertitel Abteilung A, Allgemeine Zellforschung usw.

Ab Bd. 2 (1925) mit dem Untertitel: Fortsetzung des SCHULTZE-WALDEYER-HERTWIGschen Archiv für mikroskopische Anatomie. [Dieses wurde begründet 1864. Bd. 1—13 (1876) herausgegeben von Max Schultze; Bd. 13, Heft 4, bis Bd. 35 (1890) herausgegeben von v. La Valette St. George, W. Waldeyer; Bd. 36—43 (1894) herausgegeben von O. Hertwig, v. La Valette St. George, W. Waldeyer. Ab Bd. 44 als Archiv f. mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte, ab Bd. 77—95 (1910—1922) in 2 Abteilungen. Bd. 1—95, Bonn, Cohen. Ab Bd. 96 Berlin, Springer. Fortsetzung Bd. 98—104 (1923—1925) Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik. Herausgegeben von W. Roux, H. Braus, H. Spemann.]

Die Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie steht Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der beschreibenden und experimentellen Zellen- und Gewebelehre sowie dem Gebiet der mikroskopischen Anatomie des Menschen und der Tiere offen, wobei Arbeiten mit funktionellem und experimentellem Inhalt bevorzugt werden.

Arbeiten karyologischen Inhalts werden an die Zeitschrift „Chromosoma“, Arbeiten zur histochemischen und histophysikalischen Grundlagenforschung, insbesondere ihrer Methodik, an die Abteilung „Histochemie“ weitergeleitet.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Alle Manuskripte sind zu senden und Anfragen zu richten an:

Prof. Dr. W. Bargmann, Kiel, Anatomisches Institut der Universität, Neue Universität, Eingang F 1,

Prof. Dr. Berta Scharrer, Albert Einstein College of Medicine, Dept. of Anatomy, Eastchester Road and Morris Park Avenue, New York 61, N.Y., USA,

Prof. Dr. J. Seiler, Zürich 6, Sonneggstr. 45.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301, Fernschreibnummer 01-83319
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901, Fernschreibnummer 04-61723

53. Band

Inhaltsverzeichnis

6. (Schluß-)Heft
Seite

SCHMIDT, W. J., Über Resorption von Lepido- und Actinotrichien nach Flossenverletzung bei der Schmerle (<i>Nemachilus barbatula</i> L.). Mit 6 Textabbildungen	725
EPPLE, A., Über Beziehungen zwischen Feinbau und Jahresperiodik des Inselorgans von Vögeln. Mit 19 Textabbildungen	731
RUSKA, C., und H. RUSKA, Die Cuticula der Epidermis des Regenwurms (<i>Lumbricus terrestris</i> L.). Mit 4 Textabbildungen	759
LANG, R., Zur Histologie und Zytologie der Glandula parathyreoidea des Menschen. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Epithelkörperadenomen. Mit 38 Textabbildungen	765
WOLFF, H., Entwicklungsgeschichtliche, histochemische und experimentelle Untersuchungen an den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens. Mit 11 Textabbildungen	829
DAVID, H., und L.-H. KETTLER, Degeneration von Lebermitochondrien nach Ammoniumintoxikation. Mit 6 Textabbildungen	857
RUSKA, C., Die Zellstruktur des Dünndarmepithels in ihrer Abhängigkeit von der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Darminhalts. II. Wasserlösliche, grenzflächenaktive Stoffe. Mit 6 Textabbildungen	867
Autorenverzeichnis	879

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift bezieht sich ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Gießen

ÜBER RESORPTION VON LEPIDO- UND ACTINOTRICHIIEN
NACH FLOSSENVERLETZUNG BEI DER SCHMERLE
(*NEMACHILUS BARBATULA* L.)

Von

W. J. SCHMIDT

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Dezember 1960)

Die knöchernen Flossenstrahlen (*Lepidotrichia*) der Teleostei gingen bekanntlich stammesgeschichtlich aus jenen im Mesenchym sich bildenden Schuppen hervor, welche die Seitenflächen der sich zur Flosse entwickelnden Hautfalte bedeckten. Daher besteht ein jeder Strahl aus 2 abgeplatteten lateralen Hälften, die erst nachträglich mehr oder minder fest durch sehniges Gewebe miteinander verbunden werden, manchmal aber auch knöchern verwachsen. Bei den sog. Weichflossern sind die Strahlen in eine größere Anzahl hintereinander gelegener Abschnitte gegliedert, die durch Bindegewebe verknüpft werden. Auch Längsteilung gegliederter Strahlen im distalen Abschnitt kommt vor, so z. B. bei der Schmerle (*Nemachilus* — *Cobitis* — *barbatula*), auf welche die folgende Mitteilung sich bezieht.

Am distalen Ende tragen die Strahlen der *paarigen* Flossen aller Knochenfische (gleich denen der Selachier und Dipnoer) die schnurgeraden beiderseits, sich zuspitzenden elastisch biegsamen Elastoidinfäden (*Actinotrichia*), die den äußersten Flossensaum abstützen.

Unter 17 zu Kurszwecken ungefärbt in Canadabalsam eingelegten Stückchen paariger Schmerlenflossen (ob Brust- oder Bauchflossen läßt sich nicht mehr



Abb. 1. *Nemachilus*, Rand einer paarigen Flosse mit Einriß in der Mitte. Pol. $\times$, drehbare $\lambda/16$ -Glimmerplatte, 60:1: An den dunklen Stellen der Lepidotrichien (knöchernen Flossenstrahlen) *resorptiver Abbau*, distalwärts zunehmend. (Die scharf begrenzten dunklen Flecken auf den basalen hellen Strahlgliedern sind Pigmentzellen)

unterscheiden) fanden sich 2 mit *Resorptionserscheinungen* an *Lepido-* und *Actinotrichien* und zwar dort, wo die Flosse während des Lebens vom Rande her zwischen 2 Strahlen *eingerrissen* war. Entlang dem Rißrand und noch in einigem seitlichen Abstand davon, proximalwärts aber abnehmend, zeigte sich Abbau an einzelnen oder mehreren hintereinander gelegenen Strahlengliedern, zum Teil so weitgehend, daß nur noch bescheidene Reste der Lepidotrichien verblieben. Untersuchung der Elastoidinfäden in dieser Gegend ergab, daß auch sie der Resorption verfallen.

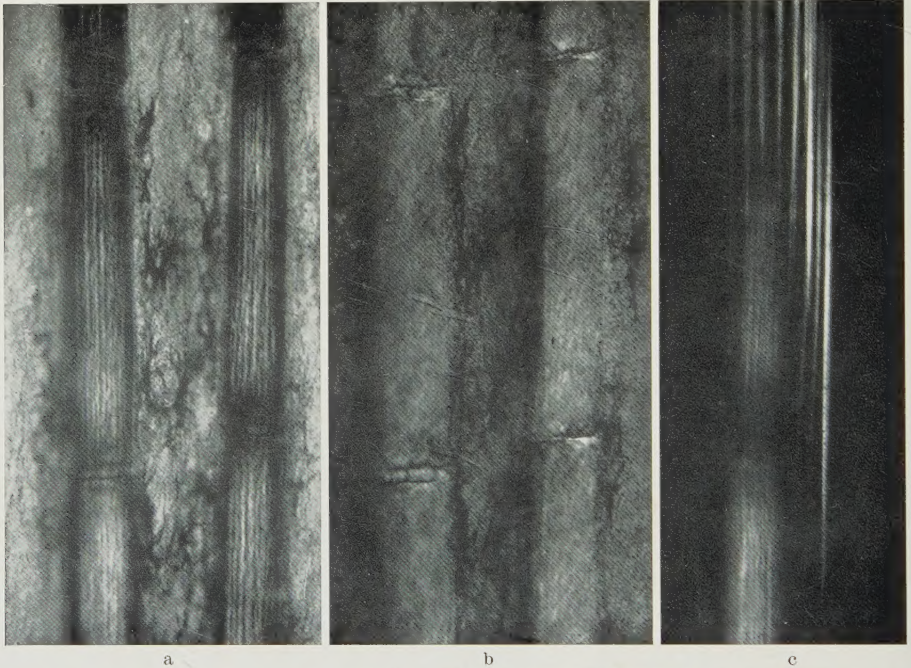


Abb. 2a—c. *Nemachilus*. a, b Stücke zweier normaler Lepidotrichien aus einer paarigen Flosse, Pol. $\times$, drehbare $\lambda/16$ -Glimmerplatte, 160:1, und zwar a Diagonal-, b Normallage; c Ende eines Flossenstrahles mit den ansitzenden Elastoidinfäden (Actinotrichia), Pol. $\times$, 160:1

Die Veränderungen lassen sich zum Teil schon in gewöhnlichem Licht erkennen, wenn auch undeutlich; zwischen gekreuzten Polars aber treten sie klar hervor (Abb. 1).

Um die Erscheinungen an den Lepidotrichien im einzelnen zu verstehen, ist die Kenntnis ihrer Polarisationsoptik im normalen Zustande erforderlich. Zwischen gekreuzten Polars leuchten die Strahlglieder in Diagonallage wie schlanke Rechtecke weißlich auf (s. Abb. 4), während sie in Normallage nach der Länge völlig auslöschen; gemäß Aussage der Gipsplatte Rot I wirken die Strahlen positiv zur Länge. Kompensiert man die knöchernen Strahlen ein wenig — wozu schon eine drehbare $\lambda/16$ -Glimmerplatte ausreicht —, so tritt an den in Diagonallage befindlichen Strahlen längsverlaufende Parallelstreifung hervor, welche die Anwesenheit von Kollagenbündeln verrät (Abb. 2a); in Normallage (Abb. 2b) verschwindet die Streifung, was den gestreckten Verlauf der Kollagenfasern in der Länge des Strahles bezeugt. Solche Strukturierung widerstrebt der Verbiegung der Strahlen bei Betätigung der Flosse, da die Kollagenfibrillen undehnbar und

unverschiebbar in die verkalkte Grundmasse eingelassen sind; die Aufgliederung der Strahlen aber erlaubt doch ihre Biegung im ganzen um die Flossenfläche. Die an den Enden der Strahlen sitzenden Elastoidinfäden (Abb. 2c) aber erleichtern durch ihre elastische Nachgiebigkeit die Überwindung des Wasserwiderstandes, der bei Umkehr der Bewegungsrichtung der hin- und herschlagenden Flossen entsteht.

Bekanntlich setzt sich die optische Anisotropie des Knochengewebes aus der Doppelbrechung der Kollagenfibrillen und jener der Hydroxylapatitkristallite zusammen. Beide sind optisch einachsig und ihre optischen Achsen liegen parallel; jedoch ist das Vorzeichen der optischen Achse beim Kollagen positiv, beim Hydroxylapatit negativ. Da nun die Doppelbrechung des Kollagens viel höher ist als die des Hydroxylapatits, bestimmt der organische Anteil das Vorzeichen der Gesamtdoppelbrechung normalen Knochengewebes. Während der Resorption der Lepidotrichien bleibt ihr *Vorzeichen auf allen Stadien des Abbaues positiv*; niemals kommt die negative Doppelbrechung der Erdsalze zum Vorschein — wie das durch künstliches Entfernen des Kollagens erreichbar ist. Demnach werden

beide Anteile gleichzeitig abgebaut, oder aber es eilt die Entkalkung der fermentativen Beseitigung des Kollagens etwas voraus; das letzte ist wahrscheinlicher, da die Kollagenfibrillen vor der Beseitigung der verbindenden verkalkten Grundmasse der Lösung schwer zugänglich sind.

Für das Verständnis der im folgenden beschriebenen Erscheinungen an den Resorptionsorten sei vorausgeschickt, daß bei Betätigung der drehbaren Glimmerplatte in subtraktivem Sinne zuerst an jenen Stellen des Strahles Verdunkelung eintritt, die den geringsten Gangunterschied besitzen — was, an gleichem und gleich orientiertem Material, bedeutet, daß die Schichtdicke abgenommen hat.

Man sieht nun allgemein im Resorptionsbereich ein *Absinken der Doppelbrechung* (Abb. 1): während die normalen Strahlen am unteren Rande des Bildes weiß aufleuchten, insgesamt im Bogen das Ende des Risses umziehend, treten



Abb. 3. *Nemachilus*, Resorption an Lepidotrichien, Pol. $\times$, drehbare $\lambda/16$ -Glimmerplatte, 160:1, rechts: Resorptionsanfänge, proximalwärts fortschreitend, an Senkung der Doppelbrechung (Verdunkelung) kenntlich; Mitte: distal verschmächtigter und verdunkelter Strahl; links Strahlglied mit seitlichen Resorptionsbuchten, Längsbündel an seinem oberen Ende wie abgeschnitten

distalwärts die mehr oder minder abgebauten *Lepidotrichia* dunkel hervor, was Materialschwund anzeigt.

Unter stärkeren Vergrößerungen (Abb. 3) zeigt sich als erste Resorptionsstufe (am rechten Bildrand) ein Dunkelwerden der Glieder an ihren Seiten und Enden, während im mittleren Teil die Längsstreifung noch hell erscheint. Dann (mittlerer Strahl der Abb. 3) erfaßt die Verdunkelung die Strahlglieder in ihrer gesamten Länge; gleichzeitig verschmälert sich das Glied und seine Begrenzung wird leicht unregelmäßig. Darauf erscheinen solche Substanzverluste in der ganzen Dicke des Strahles, so daß nur noch Reste von Gliedern zurückbleiben



Abb. 4. *Nemachilus*, Pol. $\times$, 160:1: Gruppe von Flossenstrahlen distal abgebaut, der linke Strahl auch proximal, Elastoidinfäden verschwunden

(links in Abb. 4). Gerade diese Spätstadien sind lehrreich; denn sie zeigen nicht nur die Längsfaserung (oberes Ende des linken Gliedes in Abb. 3) in welliger Grenze wie mit dem Messer durchschnitten; sondern seitlich sind tiefe scharf umrissene Buchten entstanden vom Charakter Howshipscher Lakunen. Endlich bleiben nur noch hier und da nach der Länge des ehemaligen Strahles verlaufende faserige Reste zurück. Gelegentlich spielt sich die Resorption derart ab, daß nur der eine Paarling eines Gliedes erfaßt wird, während der andere zunächst noch unversehrt bleibt; alsdann tritt an der Abbaustelle der andere Paarling, freigelegt und vom Kompensator geschwärzt, hervor.

Im allgemeinen beginnt die Resorption der *Lepidotrichien* an deren distalen Enden; jedoch finden sich in unmittelbarer Nähe des Risses Strahlen, an denen zugleich Abbau vom proximalen Ende her einsetzt (links Abb. 4), so daß nur noch ein kurzes Stück des Flossenstrahles übrigbleibt. Schließlich kommt es zum völligen Verschwinden von *Lepidotrichien*.

Ungeklärt blieb der in Abb. 5 dargestellte Fall. Hier sieht man links 2 Reste von Gliedern durch einen verschmälerten Strang verbunden. Im Vergleich zu Gliedern der Nachbarschaft erscheint nämlich die Länge des geschilderten Gebildes so groß, daß sie 2 Glieder umfassen muß, die ehemals etwa in der Mitte des Stranges zusammenstießen und von hier aus resorbiert wurden. In dem so freigelegten Raum setzte *Reparation* ein, indem ein bindegewebiger Strang entstand (unverkalkt?), der die Reste der beiden Glieder verband. Diese Auffassung wird dadurch gestützt, daß der Strang nicht — wie Reste abgebauter Glieder — in Normallage völlig auslöscht, sondern eine Art Kreuzstreifung zeigt.

Auch die positiv doppelbrechenden *Elastoidinfäden* verschwinden, im Ablauf der geschilderten Vorgänge, als letzte Stützelemente der Flosse. Die Resorption (Abb. 6) setzt an ihren proximalen Enden ein. Manchmal äußert sie sich in faseriger Aufspaltung der *Actinotrichia*, welche deren Längsstruktur hervortreten läßt. An anderen Stellen verschmäligen sich die *Elastoidinfäden*, bisweilen

unvermittelt, so daß nur ein feiner axialer Anteil von ihnen übrigbleibt. Als letzte Reste von Actinotrichien zeigen sich sehr feine fibrillenartige Gebilde, deren Doppelbrechung gerade noch erfaßbar ist.

Teleologisch könnte man die geschilderte Resorption so deuten: Der tiefe Einriß der Flosse von ihrem freien Rande her minderte ihre Gebrauchsfähigkeit für lange Zeit; denn Wiedervereinigen der beiden durch den Riß getrennten Teile war



Abb. 5

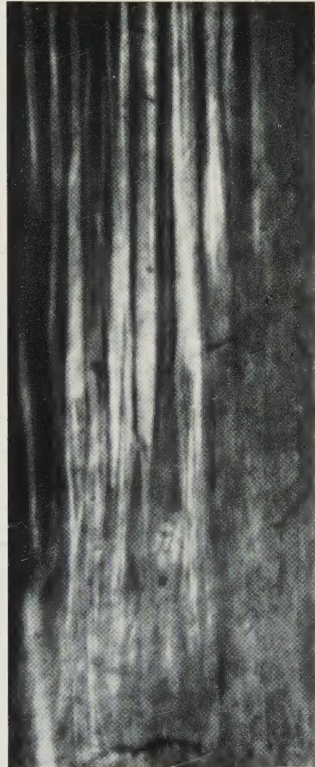


Abb. 6

Abb. 5. *Nemachilus*, Pol. $\times$, 160:1: links Reparation durch nachträgliche Verbindung zweier zum Teil abgebauter Strahlglieder (?)

Abb. 6. *Nemachilus*, Abbau von Elastoidinfäden von ihren proximalen Enden her, Pol. $\times$, 380:1: Faseriger Zerfall der Actinotrichia

wegen der dauernden Bewegung der Flosse nicht möglich, wenn es auch zum Abheilen der Rißkante durch Überkleiden mit Epithel kam. Das langdauernd anomale Verhalten der Flosse bei ihrer Bewegung löste zunächst die Resorption der betroffenen Lepidotrichien, schließlich aber auch die der zugehörigen Elastoidinfäden aus — alles mit dem Ziel, den unbrauchbar gewordenen Randteil der Flosse abzustößen, um wieder zu einem geschlossenen Flossenrand zu kommen. Dann erst dürften Regenerationsvorgänge möglich sein, wie sie nach Verlust von Flossenteilen bekannt sind.

Zusammenfassung

An paarigen Flossen des *Nemachilus barbatula* (Schmerle) fand sich im Umkreis eines tiefen Risses, der während des Lebens vom Rande her zwischen 2 knöchernen Flossenstrahlen eingetreten war, mehr oder minder weitgehender *Abbau der Lepido- und der Actinotrichien*. Die Resorption der ersten schreitet im allgemeinen unter Auftreten Howshipscher Lakunen proximalwärts fort und kann schließlich bis zum völligen Schwund der knöchernen Strahlen führen, während sie an anderen Stellen nur einzelne Glieder betrifft, ja gelegentlich nur den einen Paarling derselben. Bei den Elastoidinfäden (*Actinotrichia*) setzt der Abbau an den proximalen Enden ein; die Resorption am einzelnen Faden erfolgt entweder durch Abtragen von Substanz von außen her, so daß der Faden sich bis zum Verschwinden verschmächtigt, oder aber unter Längszerfall des Actinotrichium.

Prof. Dr. Dr. h. c. W. J. SCHMIDT, Zoologisches Institut der Universität,
Gießen a. d. Lahn, Ludwigstr. 23

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. H. GIERSEBERG)

ÜBER BEZIEHUNGEN ZWISCHEN FEINBAU UND JAHRESPERIODIK
DES INSELORGANS VON VÖGELN

Von
AUGUST EPPLE*

Mit 19 Textabbildungen
(Eingegangen am 19. Oktober 1960)

Inhalt	Seite
I. Einleitung und Fragestellung	731
II. Material und Methodik	732
III. Zum Inselorgan der Vögel	733
IV. Eigene Befunde	734
1. Das Inselorgan der Amsel (<i>Turdus merula</i> L.)	734
a) Das A-Gewebe S. 734. — b) Das B-Gewebe S. 737. — c) Plasmodien S. 740.	
d) Kernhaufen S. 741. — e) Kerngestalt S. 742. — f) Über die Möglichkeit von	
Transformationen S. 742. — g) Die Jahresperiodik S. 744.	
2. Der Einfluß von Thyroxin auf Inselorgan und Gefieder des Grünlings (<i>Chloris</i>	
<i>chloris</i> L.)	751
V. Besprechung der Befunde	752
Zusammenfassung	755
Literatur	756

I. Einleitung und Fragestellung

Zahlreiche Vogelarten oder -rassen der gemäßigten Breiten lagern bekanntlich im Herbst, Winter oder Frühjahr in erhöhtem Maße Depotfett ab. Die seit den Arbeiten von ROWAN (1925, 1926), WACHS (1926), ZEDLITZ (1926) und GROEBBELS (1928, 1930 und 1932) zu diesem Thema veröffentlichten Untersuchungen zeigen, daß bei Zugvögeln jährlich ein oder zwei durch erhöhte Fettablagerung bedingte Gewichtsmaxima auftreten, die mit der Bereitschaft zum Ziehen („Zugdisposition“) eng verbunden sind, während bei Standvögeln — falls überhaupt — nur ein einziges ausgebildet wird (FARNER 1955; Literatur). Besonders auffällig an diesen Gewichtszunahmen ist, daß sie bei Zugvögeln innerhalb weniger Wochen erfolgen (Literatur unter anderem bei MERKEL 1958a, FARNER 1959, WOLFSON 1959) und bis zu 100% des Ausgangsgewichtes betragen können (MERKEL 1956).

Ihr Zustandekommen fand teilweise widersprechende Erklärungen. ZEDLITZ (1926) deutete sie als Folge einer echten Mast, WACHS (1926) als „Folge einer verbesserten Ausnutzung der Nahrung“, GROEBBELS (1932) hält eine Umstellung endokriner Drüsen für die Ursache. WALLGREN (1954) führt die Gewichtserhöhung auf eine Senkung der Aktivität während der Hellzeit vor Zugnächten und eine gleichzeitig vermehrte Nahrungsaufnahme zurück, und RAUTENBERG (1957) erklärt sie mit Änderungen des Gesamt- und Ruheumsatzes. Die Versuche von ODUM und MAJOR (1956) und die Beobachtungen von KING und FARNER (1956) und KING (1957) hatten zu dem Schluß geführt, daß der Fettansatz vor dem

* Herrn Prof. Dr. H. GIERSEBERG zum 70. Geburtstag gewidmet.

Frühjahrszug nicht durch vermehrte Nahrungsaufnahme in Parallele zur verlängerten Helligkeit, sondern mit einer photoperiodisch induzierten echten Hyperphagie zu erklären ist, die von einer gleichzeitigen Veränderung des intermediären Stoffwechsels begleitet wird (KAMEMOTO u. Mitarb. 1958). Eine ähnliche Auffassung vertritt MERKEL (1958a) mit der Aussage, „daß die Depotbildung nicht durch eine erhöhte Futteraufnahme ausgelöst wird, sondern daß diese als Begleiterscheinung bzw. Folge einer innersekretorischen Umstellung im Vogellorganismus gewertet werden muß, die den erhöhten Kohlenhydrat-Fettumbau verursacht“. Da Insulin bekanntlich einen starken Einfluß auf die Fettablagerung ausüben und Hyperphagie bewirken kann (Literatur unter anderem bei CONN 1944, WEIL-MALHERBE 1955, KÜHNAU 1956, LUKENS 1959), prüfte ich auf Anregung von Herrn Priv.-Doz. Dr. F. W. MERKEL, ob zwischen dem Verhalten des Inselorgans und der Adiposität eine Beziehung besteht.

Aus methodischen Gründen wurde zunächst die Amsel (*Turdus merula* L.) zur Untersuchung herangezogen. Weitgehend Standvogel, bildet sie nur ein winterliches Gewichtsmaximum und zeigt die für ausgesprochene Zugvögel typischen starken Gewichtsanstiege zu den Zugzeiten nicht. Diese Species erschien jedoch im Rahmen von Paralleluntersuchungen an anderen endokrinen Drüsen (Schilddrüse: BIGALKE 1955; Nebenniere: BOUMAN, unveröffentlicht) geeignet, eine zytologische Analyse des Inselorgans im Hinblick auf die Jahresperiodik durchzuführen und Aktivitätskriterien zu erarbeiten, die für unsere Fragestellung wichtig sind. Außerdem wurde die im Verlauf der Untersuchung auftretende Frage geprüft, ob das Inselorgan einen Einfluß auf die Mauser ausübt.

II. Material und Methodik

Die untersuchten *Amseln* (*Turdus merula* L.) stammen aus Randgebieten der Stadt Frankfurt a. M. und dürften nach ihrem zutraulichen Verhalten zu urteilen als „Stadtamseln“ zu bezeichnen sein. Sämtliche Tiere der jahresperiodischen Untersuchung (59 Exemplare) wurden geschossen; ihre Organe wurden lebenswarm fixiert. Aus äußeren Gründen war es nicht möglich, ein so großes Material zu beschaffen, daß eine nach Geschlechtern getrennte Untersuchung hätte durchgeführt werden können. Eine derartige Trennung scheint auch nicht notwendig zu sein, da sich im Jahreszyklus des Inselorgans in meinem Material keine Hinweise auf sexualdimorphe Erscheinungen finden ließen. Auch OAKBERG (1949) konnte keine geschlechtsgebundenen Inselveränderungen bei verschiedenen alten Hühnern (1 bis 300 Tage) feststellen. Soweit Jungtiere hinzugezogen wurden, waren sie mindestens 3 Monate alt; das histologische Bild ihres Inselorgans entsprach völlig dem von Alttieren zur gleichen Zeit. Eine Übersicht des Materials wird unten gegeben. Zwei Nestlinge, ein flügger Vogel und die in den Versuchen verwandten Grünlinge stammen ebenfalls aus Frankfurt a. M.

Das im Versuch mit *Grünlingen* (*Chloris chloris* L.) verwandte „Thyroxin Roche“ stellte die Deutsche Hoffmann-La Roche AG dankenswerterweise zur Verfügung. Es wurde intrapektoral injiziert.

Die Fixierung erfolgte mit Bouin, die Einbettung über Tetrahydrofuran (NULTSCH 1956), die Färbung in Anlehnung an ein von SCOTT (1952) beschriebenes Aldehydfuchsin-Phloxin-Lichtgrün-Verfahren. Dazu wurde die Aldehydfuchsin-Lösung mit Rosanilin der Fa. Merck nach GOMORIS Originalrezept hergestellt und über Nacht bei 36° C künstlich zur Reife gebracht. Sie war dann sofort verwendbar und hielt sich bei Aufbewahrung im Kühlschrank monatelang. Darstellung der A-Granula mit Phloxin oder Ponceau de Xylidine, Cytoplasmafärbung mit Lichtgrün oder „fast green“. Mit dieser Methode, die auch hervorragend zur Neurosekretdarstellung geeignet ist, findet man in den Inseln des Vogelpankreas A-, B-, D-, Kolloid- und ungranulierte Zellen. Eine besonders prägnante Färbung der Körnelung in A- und D-Zellen erhält man, wenn zwischen Aldehydfuchsin und Phloxin noch die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung (ROMEIS 1948, § 672) eingeschaltet wird, wobei außerdem die D-Zellen durch röthliches Cytoplasma stark hervortreten.

Zur Beurteilung des Funktionszustandes wurden die A-Inseln nach 3, die B-Inseln nach 4 Stadien gegliedert, und zwar unter Heranziehung der von KRACHT (1958a, b; 1959) für Säuger beschriebenen und weiterer für das Amselpankreas zusammengestellter Aktivitätskriterien (Tabelle 1). Selbstverständlich können die Grenzen der Stadien niemals genau festgelegt werden, so daß sich eine gewisse Subjektivität bei der Klassifizierung nicht ausschließen läßt. Daher erschien es auch nicht ratsam, das A-Gewebe wie das B-Gewebe in 4 Stadien einzuteilen, da das Reaktionsspektrum des aktivierten A-Gewebes unauffälliger ist. Zur Beurteilung wurden pro Tier mindestens 3 große A-Inseln und je nach Größe 5—10 B-Inseln aus 3 oder mehr Organregionen herangezogen. Wenn auch mitunter einzelne Inseln während der Jahresperiodik gegenüber der Gesamttendenz des Gewebes etwas zurückbleiben, so fand ich innerhalb eines Organs doch nie größere Unterschiede im Aktivitätsgrad. Im ganzen wurde das jahresperiodische Material 5mal durchgesehen, dabei 2mal zur Vermeidung von Vorurteilen ohne vorhergehende Kenntnis des betreffenden Präparates, für jede Gewebeart¹ gesondert.

Das Grünling-Material und ein Teil des Amselmateriales wurden karyometrisch geprüft. Dazu wurden pro Tier und Zellart mindestens 100 Kerne in 1800facher Vergrößerung projiziert und die Konturen der im Zentrum befindlichen randscharfen Kerne nachgezeichnet. Die Berechnung erfolgte nach der Formel des Rotationsellipsoids, die statistische Auswertung nach HOSEMANN (1949).

III. Zum Inselorgan der Vögel

Untersuchungen von CLARA (1924a, b) und NAGELSCHMIDT (1939) ergaben, daß die „hellen“ Inseln des Vogelpankreas den B-Zellen und die „dunklen“ Inseln weitgehend den A-Zellen der Inseln der Säuger entsprechen. Bisweilen sind beide Elemente auch gemischt oder in Form der „Mantelinseln“ vereinigt; ebenso findet man öfters Einzelzellen bzw. kleine Gruppen der einen Zellart in Inseln der anderen oder im exokrinen Parenchym zerstreut (NAGELSCHMIDT 1939, MILLER 1942, VAN CAMPENHOUT und CORNELIS 1954, MÜLLER u. Mitarb. 1956). Umgekehrt liegen in beiden Inselarten nicht selten Teile von exokrinem Parenchym, die mit dem Gangsystem durch ein Schaltstück verbunden sind (MÜLLER u. Mitarb. 1956, HELLMAN und HELLERSTRÖM 1960). Ein „insuläres Gangorgan“ (FEYRTER 1938) in Form von Einzelzellen oder „Inselzapfen“, wie es beim Säuger in Epithel und umgebendem Bindegewebe der exokrinen Gänge angetroffen wird, wurde meines Wissens vom erwachsenen Vogel bisher nicht beschrieben, wohl aber liegen besonders die großen A-Inseln, gelegentlich auch B-Inseln in der Nähe der großen Gänge oder stoßen direkt an deren Epithel (CLARA 1924a, b; NAGELSCHMIDT 1939), „daß an einem Aussprossen dieser Insel aus dem Gangepithel oder Gangbindegewebe nicht gezweifelt werden kann“ (CLAUSEN 1953). Ein großer Teil der Inseln, besonders die A-Inseln, scheinen bei allen beschriebenen Vogelarten im dorsalen Pankreas und im „Milzsegment“ zu liegen. MIALHE (1958) schließt aus Versuchen an Enten, daß das Ausbleiben eines Diabetes nach Pankreasentfernung bei früheren Untersuchungen an verschiedenen Vogelarten durch ein Übersehen des Milzsegmentes zu erklären ist.

Nach NAGELSCHMIDT (1939) bestehen die „hellen“ Inseln nur aus B-Zellen, während sich in den „dunklen“ Inseln bei allen von ihr untersuchten Arten mit Ausnahme des Kleibers neben A- auch D-Zellen nachweisen ließen sowie „vielfach eine Zellart mit etwas abweichend sich färbenden Granula, welche als ein besonderer Funktionszustand der A-Zellen gedeutet wird“. Oft wurden auch Mantelinseln beobachtet. MILLER (1942) beschreibt ebenfalls nach Azanfärbung bei Haustauben A-, B- und D-Zellen, die gewöhnlich größere, aus A- und D-Zellen bestehende „dunkle“ und kleinere, aus B- und D-Zellen geformte „helle“ Inseln bilden. Gelegentlich traf er auch A-Zellen in dem D-Zellenmantel der B-Inseln. MÜLLER u. Mitarb. (1956) finden mit der Aldehydfuchsin-Ponceau-Färbung nach RUNGE bei der Hausente aus B-Zellen bestehende „helle“ Inseln, in den „dunklen“ Inseln aber neben typischen A-Zellen und absterbenden Elementen „vereinzelte andersartige Inselzellen, deren Zuordnung problematisch ist“. Diese werden teils als B- oder D-Zellen gedeutet. Weiterhin finden sie „im

¹ Die im folgenden angewendete Nomenklatur unterscheidet zwischen Zellarten und Zelltypen: das Inselorgan besitzt danach mindestens 2 funktionell selbständige Zellarten, die A- und B-Zellen. Zelltypen (z. B. C- und Kolloid-Zellen) sind morphologisch abgrenzbare Funktionsstadien dieser Zellarten. Zellform kann als Sammelbegriff Zellart wie Zelltyp bedeuten. Die Gesamtmasse einer Zellart ist das A- oder B-Gewebe. Die in ihrer Bedeutung unsichere D-Zelle wird wegen ihrer Lage zum A-Gewebe gezählt.

Grenzbereiche der „dunklen“ Inseln zum exokrinen Gewebe wie auch an der Peripherie der kleinen Mantelinseln . . . Zellen mit hellem ungefärbtem Plasma, bei denen eine Granulation mit Sicherheit nicht auszumachen ist. Ihr Zellkern ist meist rundlich oder oval und chromatinarm und durchschnittlich von der Größe der A-Zellkerne. Er findet sich entweder dem Verhalten in den exokrinen Zellen entsprechend kapillarnah oder wie in den A-Zellen kapillarfern“. Das Hervortreten verschieden gefärbter A-Zellformen bei NAGELSCHMIDT beruht nach diesen Autoren auf der mangelnden Spezifität der Azanmethode. HELLMAN und HELLERSTRÖM (1960) sehen nach Chromhämatoxylin-Phloxin-Färbung bei Ente und Huhn in den „dunklen“ Inseln granulierten und ungranulierten A- sowie D-Zellen, in den hellen Inseln neben den typischen B-Zellen vereinzelte, peripher liegende A-Zellen. LIEVRE (1957a, b) stellte fest, daß A- und B-Zellen (Hühnerembryonen) sich unabhängig voneinander entwickeln und daß ihr Granulagehalt zu verschiedenen Zeiten starken Schwankungen unterliegt.

IV. Eigene Befunde

1. Das Inselorgan der Amsel (*Turdus merula* L.)

a) Das A-Gewebe. Lage und Bau der „dunklen“ Inseln. Die A-Inseln der schlüpfenden Amsel und des 2 Tage alten Nestlings stehen noch vielfach mit dem Epithel der Ausführungsgänge in Verbindung. Ihre Zellen sind haufenartig gelagert, meist polyedrisch oder auch kubisch geformt und besitzen einen großen Kern mit großem Nukleolus. Ihre Granulierung ist äußerst fein. Mitosen sind nicht selten.

Die A-Inseln der flüggen Amsel zeigen oft schon das Bild wie bei erwachsenen Tieren zur Zeit der Vormauer (s. unten), da sich die Zellen zum Teil bereits gestreckt haben und durch ihre strangartige Orientierung entlang den Kapillaren den Eindruck einer Ordnung erwecken.

Die A-Inseln der erwachsenen Amsel liegen hauptsächlich im dorsalen Pankreas und Milzsegment, wo sie besonders häufig mit dem exokrinen Gewebe kontinuierlich verbunden sind. Im übrigen Pankreas sind sie meist stärker durch Bindegewebe abgegrenzt, dessen Fasern jedoch nicht so auffallen wie die Umhüllung der B-Inseln. Im ventralen Pankreas sind die A-Inseln spärlich und im allgemeinen kleiner als in den übrigen Teilen. Auch die dunklen Inseln des erwachsenen Tieres lassen oft noch deutliche Beziehung zu großen Gängen erkennen. Während der jahresperiodischen Involution kommt es niemals zu so starker Aufspaltung wie bei den B-Inseln.

Die A-Zelle. Die jungen, die frisch regenerierten, anscheinend auch die hochaktiven A-Zellen enthalten eine äußerst feine Granulation, die am besten durch HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin darzustellen ist. Die Azidophilie ist schwieriger nachzuweisen, da sich bei der Färbung mit sauren Farbstoffen außer den zarten Körnchen auch das Cytoplasma tingiert. Die Granula der „typischen“ A-Zellen sind kräftiger, durch Phloxin, Säurefuchsin, Ponceau de Xylidine usw. leicht darzustellen und heben sich gut von dem leicht lichtgrün gefärbtem Cytoplasma ab. Die Dichte der Körnelung ist sehr unterschiedlich; innerhalb einer Zelle sind die Körnchen jedoch recht gleichmäßig verteilt. Anreicherungen der Granula am Kapillarpol sind sehr selten. Die aktivierte A-Zelle ist hochprismatisch bis flammenförmig, in sich rückbildendem Gewebe sind die Zellen unterschiedlich gestaltet und von lockerer, relativ grober Granulation erfüllt. Größe und Aussehen der Kerne schwanken funktionsbedingt (s. unten); soweit die Zellen Kapillaren berühren, liegen sie stets im kapillarfernen Zellpol.

Die D-Zelle. Die Darstellung der D-Zellen gelingt am besten mit der kombinierten Scott-Heidenhain-Methode (Cytoplasma rosa mit zarten, dunklen Granula), aber auch mit dem Scott-Verfahren (Abb. 1 u. 10) ist sie, besonders in hyperplastischen Inseln an ihrem schwach bläulich oder blaugrau getönten Cytoplasma zu erkennen. Als wesentlichstes Kriterium gegenüber der A-Zelle erscheint mir die leichte Amphiphilie ihres Cytoplasma. Zum Unterschied zur B-Zelle sind ferner ihre in wechselnder Zahl vorhandenen, feinen Granula azido- und siderophil, niemals durch Aldehydfuchsin färbbar. Ihr Kern gleicht dem der A-Zelle. Während des ganzen Jahres ist die D-Zelle in wechselndem Prozent-

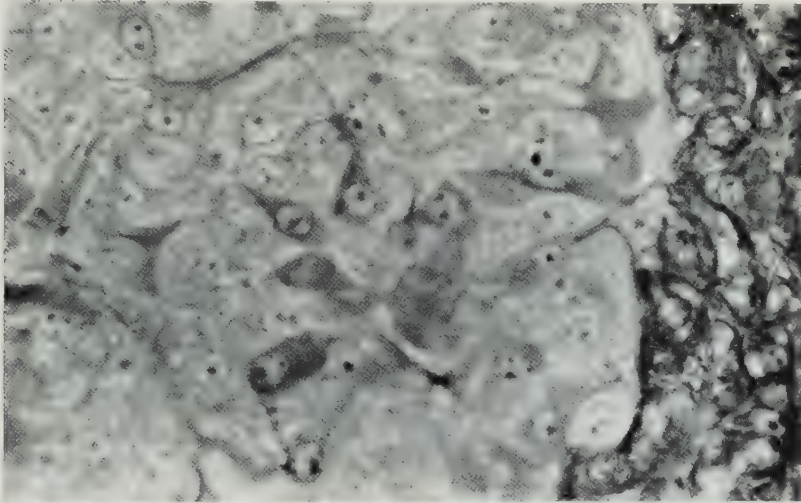


Abb. 1. Eine Gruppe von D-Zellen hebt sich durch dunkel gefärbtes Cytoplasma deutlich von den umgebenden A-Zellen ab (Bildmitte). Kerne und Zelleiber zeigen keinerlei degenerative Merkmale. Am rechten Bildrand exokrines Parenchym. Ausschnitt aus Abb. 10. Scott-Färbung, 1000fach, Grünfilter

satz (etwa 3—20%) in den A-Inseln zu finden; bei der jahresperiodischen Inselinvolution geht sie ebenfalls in das Stadium der „Schrumpfzelle“ über. Bei der nestjungen Amsel konnte ich D-Zellen nicht finden (s. auch NAGELSCHMIDT 1939, Kleiber). Daß es sich bei dieser Zellform um eine in ihrer Vitalität geschädigte A-Zelle handelt, wie GOMORI (1939) und FERNER (1952) für die D-Zelle der Säuger annehmen, ist wegen ihres Verhaltens während der Jahresperiodik und des zeitweilig völlig normalen Aussehens der Zellkerne (Abb. 1) wenig wahrscheinlich. MILLER (1942) beschreibt sogar D-Zellmitosen nach Hormoninjektionen. Als Übergangselement zur B-Zelle dürfte sie daher nicht in Frage kommen. Außerdem ist die D-Zelle in den A-Inseln der Amsel viel häufiger als die gelegentlich eingesprengten B-Zellen.

Die Kolloidzelle der dunklen Inseln. Diese bislang bei Vögeln nicht beobachtete Zellform in den A-Inseln der Amsel unterscheidet sich von der D-Zelle nur durch ihren Gehalt an Kolloid (Abb. 2), das sich mit Aldehydfuchsin färbt. Sie findet sich hauptsächlich in rückgebildeten und regenerierenden A-Inseln in wechselnder, geringer Zahl. Die Kerne sind teils nukleolenfrei, teils hyperchromatisch, in anderen Fällen deutet ein unregelmäßig gezackter und mit Randstiften verbundener Nukleolus (vgl. ALTMANN 1952; HIRSCH 1959) auf

starke RNS-Abgabe selbst in ziemlich kleinen Zellen, die entweder gar keine oder wenige azido- und siderophile Granula enthalten. Die Kolloidtropfen gleichen großen B-Granulen oder den Körnchen der exokrinen Pankreaszellen, sind recht unterschiedlich groß und neigen zur Konfluenz, wobei stäbchen-, kugel- oder birnenförmige Bildungen entstehen. Besonders große Kolloidmassen zeigen bei Scott-Färbung im Zentrum einen leicht rötlichen Farbton. Das Kolloid wird stets nahe dem Kernrand gefunden. Ob es darüber hinaus auch im Kerninnern vorkommt, vermag ich nicht sicher zu entscheiden.

Wieweit die Substanz mit den Inselkolloiden verschiedener Teleostier (Literatur bei CAESAR 1954) zu vergleichen ist, insbesondere mit den zuerst von BARGMANN (1937) bei *Scorpaena porcus* gefundenen Kolloidkugeln, die neuerdings von MOSCA (1959) als Glukagonakkumulat gedeutet werden, bedarf noch der Klärung.

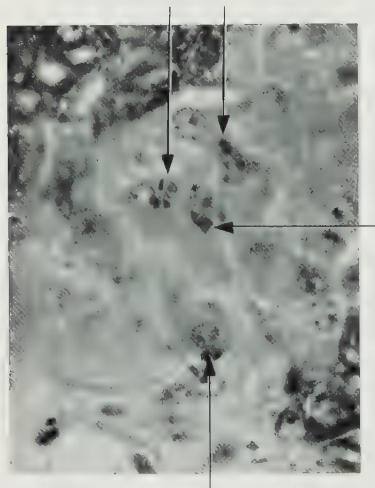


Abb. 2. Zellen mit Kolloid (Pfeile) in einer A-Insel. Links oben und rechts unten exokrines Parenchym. Wie Abb. 1

Mit dem Kolloid der Metamorphosezelle im Pankreas der Cypriniden (Teleostier) dürfte sie nicht identisch sein, da dieses bei der Transformation von exokrinem zu endokrinem Inselgewebe auftritt (SCHÄTZLE 1954), während in meinem Material kein Hinweis auf eine Entstehung aus exokrinem Gewebe vorliegt. Nach den cytologischen Eigenschaften und ihrer Lage dürfte die Kolloidzelle entweder aus der A- oder der D-Zelle hervorgehen. Ihre Bedeutung ist unbekannt.

Ungranulierte Zellen. In wechselnder Anzahl und besonders in A-Inseln findet man granulafreie Zellen, die gestaltlich den umgebenden A-Zellen gleichen, während der Kern durchschnittlich kleiner und in manchen Inseln

pyknotisch ist. Da man sie leicht über wenig granulierte Zwischenstufen von der A-Zelle ableiten kann (vgl. HELLMAN und HELLERSTRÖM 1960), dürfte diese Zellform der „clear cell“ oder C-Zelle des Meerschweinchens (BENSLEY 1911/12) entsprechen, deren Deutung als undifferenzierte Zelle von FERNER (1952) jedoch abgelehnt wird. Ich möchte in dieser anscheinend auch von NAGELSCHMIDT (1939) und MÜLLER u. Mitarb. (1956) für das Vogelpankreas beschriebenen Zelle eine A-Zelle mit eingestellter Sekretion sehen, die aber in manchen Fällen wieder regenerieren kann, da man sie auch zu Beginn der sommerlichen Inselaktivität (s. unten) gelegentlich zwischen den langgestreckten A-Zellen antrifft. Ein anderer Weg der C-Zelle führt zur Schrumpfzelle (s. unten). Mit der C-Zelle kann eine nicht sehr häufige andere ungranulierte Zellform der stark aktivierten A-Inseln leicht verwechselt werden, die jedoch durch ihren großen Zelleib und einen „Lang“- oder Amitosekern (s. unten) starke Sekretion oder bevorstehende Teilung anzeigt.

Schrumpfende Zellen. Derartige, auch von MÜLLER u. Mitarb. (1956) für die A-Inseln der Ente erwähnten Zellen sind in ihrer Gestalt der Umgebung angepaßt. Ihr Kern ist zunächst hyperchromatisch, später pyknotisch. Wenn der Schrumpfungsprozeß von einer granulierten A-Zelle ausgeht, scheinen die Körnchen bei

erhaltener Färbbarkeit zu verschmelzen, so daß die für die sich rückbildenden A-Inseln oftmals typischen stark hyperchromatischen und seitlich zusammengepreßten Schrumpfungszellen entstehen, deren ganzer Zellinhalt schließlich homogen (Abb. 11). Die Zellen sind in dieser Form zweifellos absterbende Elemente. Schrumpfungszellen gehen auch aus D-Zellen hervor. In diesem Fall gleichen sie im Farbton den D-Zellen, so daß sich auch in den letzten Untergangsstadien der pyknotische Kernrest noch gut vom Cytoplasma abhebt. Während der jahresperiodischen Involution (s. unten) bleiben solche Zellen bisweilen länger als das ursprünglich umgebende A-Gewebe erhalten, so daß sie von typischen Onkocyten (HAMPERL) oft nur durch ihren kleinen Zelleib abweichen. Onkocyten des endokrinen Pankreas scheinen nur aus einem B-Zellen-Adenom bekannt zu sein (HAMPERL 1937, WATZKA 1955). Eine weitere Form der Schrumpfungszellen entsteht, wenn das Cytoplasma von C-Zellen bis auf einen hyalinen Saum um die stark verkleinerten Kerne zusammenschrumpft. Aus Ansammlungen solcher Zellen gehen dann häufig Kernhaufen hervor (s. unten), wenn die Zellen nicht bereits in diesem Stadium zugrunde gehen.

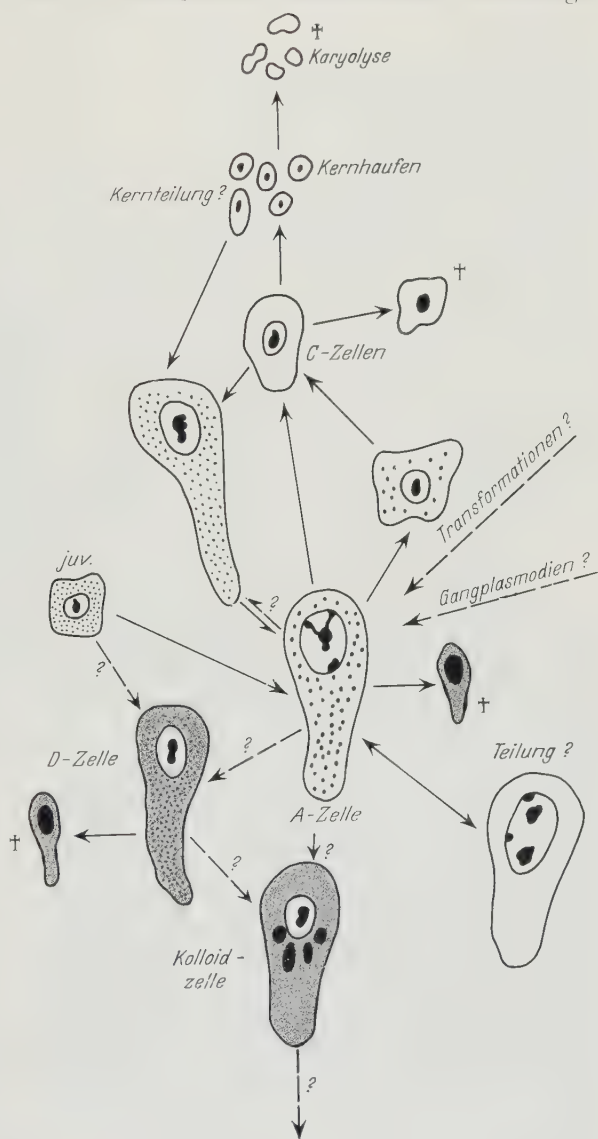


Abb. 3. Die Zelltypen des A-Gewebes und ihre Beziehungen zueinander

b) Das B-Gewebe. Lage und Bau der hellen Inseln. In den B-Inseln der schlüpfenden Amsel und des Nestlings sind die Zellen ebenso haufenartig gelagert wie in den A-Inseln. Die Kerne sind groß, die Nukleolen hypertrophieren und Mitosen sind nicht selten. Während die Zellen des 2 Tage alten Tieres mit normalen Granula gefüllt sind, enthalten die meisten Zellen des schlüpfenden

Tieres eine äußerst feine Körnelung und nur selten einige wenige typische B-Granula. Das weitgehende Fehlen letzterer ist möglicherweise ein Zeichen erhöhter Sekretion, da LIEVRE (1957b) bei Hühnerembryonen einen zeitlich stark wechselnden Granulagehalt nachweisen konnte. Während der Ontogenese scheinen auch helle Inseln aus Gängen hervorzugehen (Abb. 4).

Die B-Inseln der flüggen Amsel gleichen weitgehend denen der erwachsenen zur Zeit der Vormauer (s. unten), sind aber noch kleiner und enthalten manchmal Kernhaufen oder zeigen bei dichter Kernlagerung die Umwandlung von Kern-

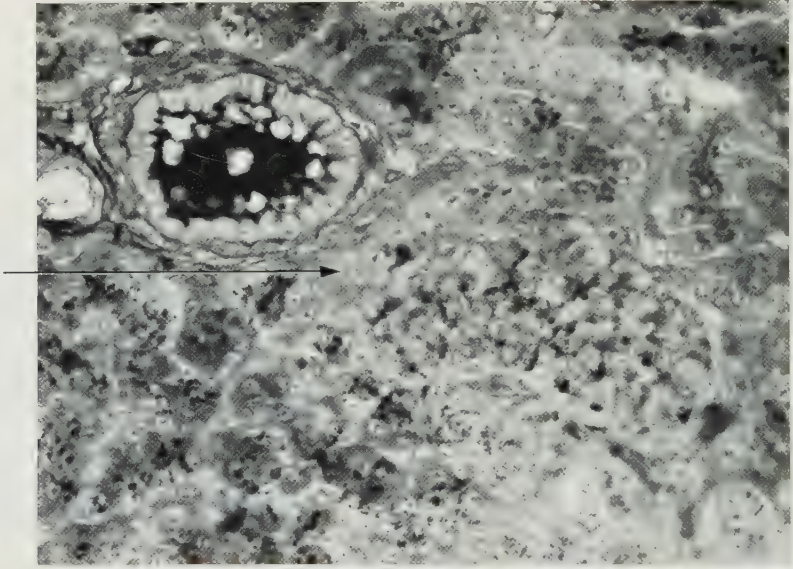


Abb. 4. B-Insel einer 2 Tage alten Amsel in Berührung mit Gangbindegewebe (s. Pfeil). Scott-Färbung, 400fach, Grünfilter

haufen in funktionstüchtiges Inselgewebe. Auch in den außerhalb der Inseln gelegenen Kernhaufen ist stellenweise B-Zellen-Bildung nachzuweisen.

Die B-Inseln der erwachsenen Amsel liegen überwiegend im hinteren Dorsalteil des Pankreas und im Milzsegment, wo sie die stärksten Ausmaße erreichen, sind außerdem aber auch in den übrigen Teilen des Pankreas regelmäßiger als die A-Inseln zu finden. Sie können beim erwachsenen Tier aus kleinen Gängen neu gebildet werden (Abb. 5); eine Beziehung zu großen Gängen konnte ich nicht mehr finden. Sie werden von einem zeitweilig stark hervortretendem Netz von Bindegewebefasern umgeben und zeigen jahresperiodisch schwankende Kontinuität und Kontiguität zum exokrinen Parenchym. Bei der jahresperiodisch bedingten Involution (s. unten) neigen sie zu Aufsplitterung in „perikapillare Zellreihen“ und „Spiralinseln“. Als „perikapillare Zellreihen“ bezeichne ich eine im Amselpankreas sehr häufige rosettenartige Lagerung von B-Zellen um eine sehr weitlumige Kapillare. Auch bei Involution des B-Gewebes bleibt ein großer Teil dieser Gebilde bestehen, obwohl die beteiligten Zellen sehr stark schrumpfen können (Abb. 18). Eine weitere auffallende Inselform im sich rückbildendem B-Gewebe ist die Spiralinsel (Abb. 6 und 17). Ihre Bildung erfolgt, wenn beim

Schwinden einer Kapillare die ursprünglich um sie orientierten Zellen bei mäßig schrumpfendem Leib gestreckt bleiben (Abb. 7).

Die B-Zelle. Sie besitzt einen stark wechselnden Granulagehalt dessen Färbbarkeit durch Aldehydfuchsin mit dem Funktionszustand der Zelle korreliert ist: dieser färbt sich bei Anwendung der Scott-Methode im allgemeinen schwarzviolett, in atrophierenden Zellen mit verdämmernden Kernen mehr bläulich, in „Stauzellen“ (Sekretionsstop bei zunächst erhaltener Produktion) dagegen intensiv schwarz. Das nicht seltene gemeinsame Vorkommen der letztgenannten Zellformen in einem Präparat spricht dafür, daß die Färbungsunterschiede keine Artefakte sind. Der Kern der B-Zellen liegt stets kapillarfern und ist in seinem Aussehen funktionsbedingten Schwankungen unterworfen (s. unten).

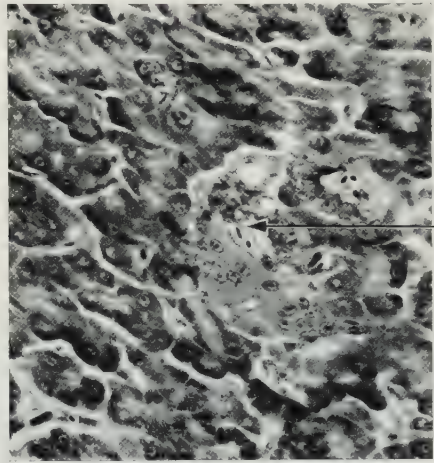


Abb. 5. Aus undifferenziertem Gang hervorgehendes Plasmodium mit Langkernen bildet unter Kapillarzutritt (Pfeil) granulierten B-Zellen. Wie Abb. 4

Die Kolloidzelle der „hellen“ Inseln. In rückgebildeten hellen Inseln finden sich besonders zu Beginn der Regeneration, gelegentlich Zellen, die bei meist stark ausgedünnter Granulation genau wie die entsprechenden Elemente der A-Inseln eine vom Kernrand ausgehende Bildung von gomori-positivem Kolloid zeigen (Abb. 8). Ihre Kerne besitzen dieselben Merkmale wie die der Kolloidzellen der A-Inseln, doch unterscheidet sich das Cytoplasma nicht von dem der normalen B-Zellen.

Zur gleichen Zeit entstehen bei manchen Tieren in den B-Zellen sehr kräftige, im Gegensatz zu normalen B-Granula unterschiedlich große gomori-

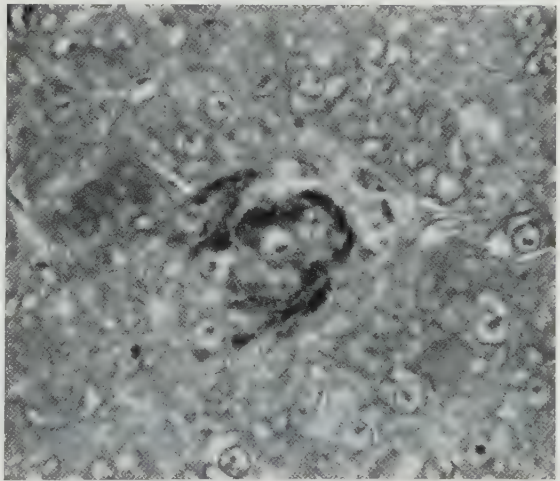


Abb. 6. Spiralinsel. Wie Abb. 1

positive Körnchen, die ich außerdem in besonderer Menge in Inseln von Amseln fand, die nach 3wöchigem Aufenthalt in einem überhitzten Raum (36° C) plötzlich für 8 Std einer Temperatur von 12° C ausgesetzt waren. Weiterhin finden sich in rückgebildetem B-Gewebe mitunter kleine Zellen, die nur noch aus einem pyknotischen Kern in einer homogenen Kolloidmasse bestehen.

Die Frage, ob diese 3 Zellformen verschiedene Stadien eines Sekretionszyklus darstellen und wie weit ihre Sekrete miteinander und mit der Substanz der

B-Granula oder dem Kolloid der A-Inseln identisch sind, muß vorerst offenbleiben. Kolloidbildung im B-Gewebe ist sonst nur von den B-Zellen der Inseladenome bekannt (Literatur bei FERNER 1952).

Ungranulierte B-Zellen. In sich rückbildenden B-Inseln kann man ähnlich wie in den A-Inseln ungranulierte, relativ kleine Zellen mit häufig hyperchromatischen oder pyknotischen Kernen beobachten.

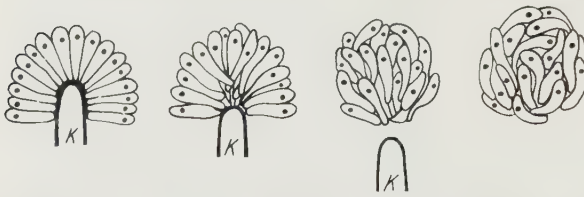


Abb. 7. Schema der Bildung einer Spiralinsel mit zurücktretender Kapillare (K)

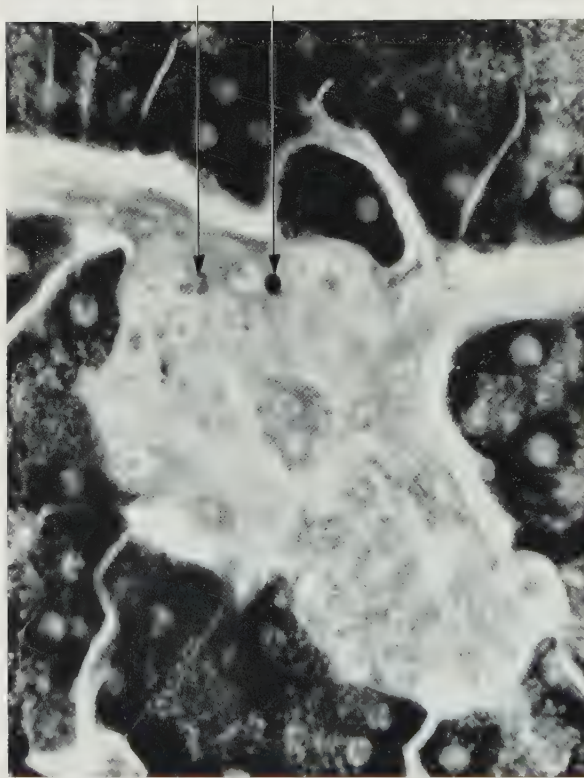


Abb. 8. Kolloid (Pfeile) in einer B-Insel. Wie Abb. 1

die bei weiterer Involution schließlich nur noch aus einem Kern mit schmalen Cytoplasmasaum bestehen. Aus Ansammlungen solcher Zellreste können genau wie im A-Gewebe Kernhaufen hervorgehen.

Einen zweiten Typ der ungranulierten B-Zelle findet man in hypertrophierenden Inseln. Es handelt sich um große Zellen mit großem, blasigem und oft länglichem Kern, so daß das Fehlen der Granulation als Ausdruck erhöhter Sekretion zu werten ist, vielleicht auch in manchen Fällen auf Zellteilungen hinweist.

c) Plasmodien. Am Rande aktivierter B-Inseln, besonders zu Beginn der sommerlichen Hyperplasie, findet man, soweit sich dies lichtmikroskopisch feststellen läßt, nicht selten Plasmodien (Abb. 15 und 16). Da ich in meinem Material bei erwachsenen Tieren auch in stark wachsenden Inseln niemals Mitosen fest-

stellen konnte, andererseits aber nicht selten in Plasmodien Kernformen antreffe, die völlig solchen gleichen, wie sie z. B. von CLARA (1936) für das Nebennierenmark und von BUCHER (1959) für Fibrocyten als Beispiele von Amitosestadien abgebildet werden, halte ich die amitotische Kernteilung in den Plasmodien für höchst wahrscheinlich, d. h., daß hier Amitosen zur Bildung neuer Zellen führen. Auch ROMEIS (1940) beschreibt für die Hypophyse eine Zellvermehrung durch Amitose in Plasmodien. Ein einwandfreier Nachweis von Amitosen ist jedoch nur am lebenden Gewebe möglich (BUCHER 1959).

Plasmodien sprossen ebenfalls aus kleinen Gängen (Abb. 5) aus, so daß eine Bildung auch von A-Gewebe auf diesem Weg nicht auszuschließen ist. An den

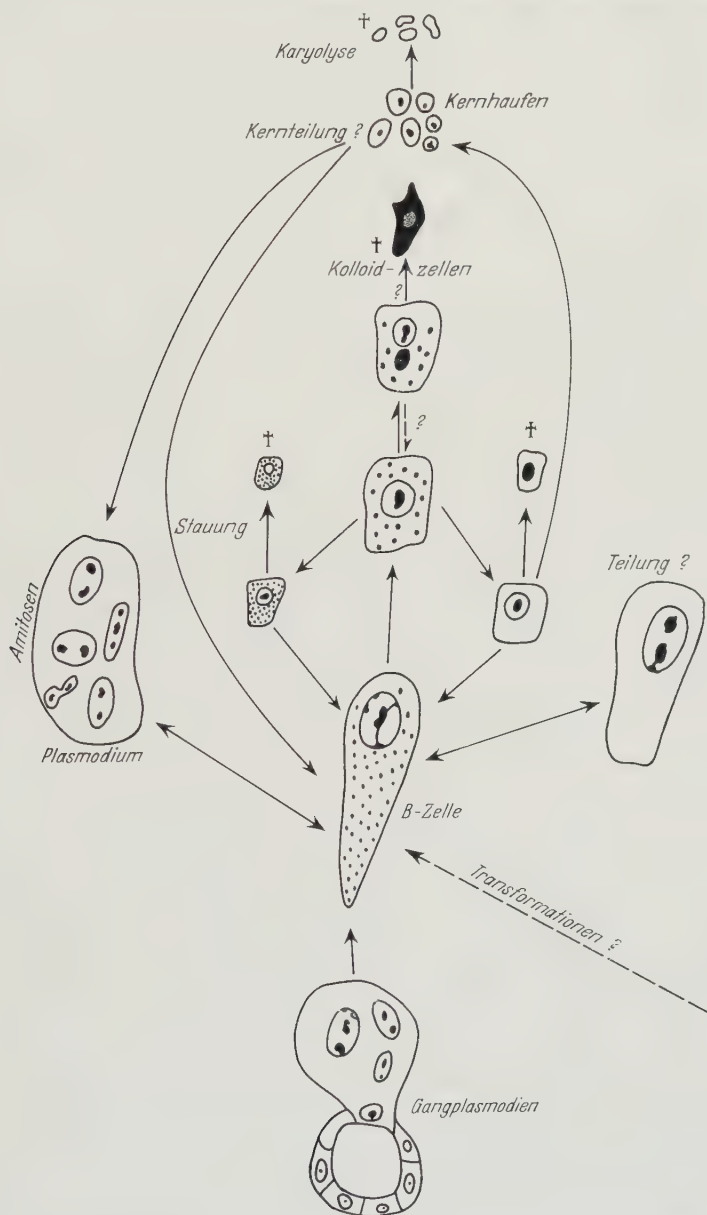


Abb. 9. Die Zelltypen des B-Gewebes und ihre Beziehungen zueinander

A-Inseln selbst fand ich keine Plasmodien, wohl aber Zellkomplexe, die aus Plasmodien hervorgegangen sein könnten (unklare Zellgrenzen, fehlende oder schwache Granulierung bei großem Kern).

d) **Kernhaufen.** Ähnlich wie in der Hypophyse verschiedener Vertebratengruppen (ROMEIS 1940, WINGSTRAND 1951, METUZALS 1951) finden sich auch

im Pankreas der Amsel Ansammlungen von Kernen, zwischen denen das Cytoplasma weitgehend geschwunden ist und Zellgrenzen nicht sicher erkennbar sind. Sie gehen aus sich rückbildenden Inseln beider Gewebearten hervor (s. oben). Zu Beginn der Regeneration vergrößern sich die Kerne in den Haufen, und auch die Zahl der Kerne scheint vermehrt, so daß der Bildung neuer Zellen möglicherweise bereits im Kernhaufen Teilungen vorausgehen.

Kernhaufen entstehen auch bei Inselneubildung, wenn die Bildung von Cytoplasma mit der forcierten Kernteilung nicht Schritt hält. Solche Bilder finden sich z. B. im Pankreas der schlüpfenden Amsel sowie in Plasmodien (Abb. 14). Sie lassen sich von involutionsbedingten Kernhaufen durch Größe und Gestalt ihrer Kerne leicht unterscheiden.

e) Kerngestalt. Die meisten Kerne beider Zellarten sind leicht ovoid, seltener rund. Riesenkerne trifft man in jahresperiodisch aktivierten wie dithizonstimulierten (EPPLE, unveröffentlicht) Inseln beider Zellarten. Hantelförmige oder andere ungewöhnliche Kernformen kommen ebenfalls in hyperplastischen und dithizonstimulierten Inseln vor, aber auch in degenerierendem Gewebe. Zweikernige Zellen finden sich in hochaktiven Inseln, fehlen jedoch sonst anscheinend völlig. Besonders auffallend sind in beiden Inselarten langgestreckte, verhältnismäßig große Kerne mit entweder keinem, seltener einem, meist aber mehreren Nukleolen (Abb. 5 und 14). Ihre längliche Gestalt ist — besonders in Plasmodien — nicht immer durch den Bau der betreffenden Zelle zu erklären. Diese „Langkerne“, für die sich alle Übergangsstadien zu normalgestalteten Kernen nachweisen lassen, treten in aktivierten Inseln der erwachsenen Amsel stark hervor und finden sich auch gelegentlich an den Rändern der Inseln des Nestlings. In den Plasmodien scheinen sie zum Teil die Vorstufen der Amitosekerne darzustellen. Ihr vermehrtes Auftreten ist für das Inselorgan der Amsel stets ein Hinweis auf gesteigerte Aktivität.

f) Über die Möglichkeit von Transformationen. Obwohl bereits CLARA (1924b) darauf hinweist, daß das Vogelpankreas ein besonders günstiges Objekt zur Prüfung von azinoinsulären Transformationen darstellt, existieren nur wenige derartige Untersuchungen. Eine kritische Übersicht der älteren Literatur gibt NAGELSCHMIDT (1939). Neuerdings findet MIALHE (1950) nach Thyroidektomie bei der Ente Transformationen von exokrinen zu A- und schließlich zu B-Zellen, und VAN CAMPENHOUT und CORNELIS (1953) folgern aus der von ihnen bei verschiedenen Arten beobachteten Kontinuität zwischen exokrinem und endokrinem Pankreasgewebe: «La transformation acino-insulaire, et probablement insulo-acinienne, ne peut être niée sur ce matériel.» Wie LIEVRE (1957a) jedoch zeigt, können solche Bilder lediglich durch die gemeinsame Herkunft beider Gewebearten aus Gängen oder zentroazinären Zellen bedingt sein. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß bereits in den A-Inseln der schlüpfenden Amsel vereinzelte B-Zellen vorkommen.

In meinem Amselmateriel konnte ich trotz sehr starker jahresperiodischer Änderungen auch bei sorgfältigster Prüfung niemals mit Sicherheit eine Transformation feststellen. CLARA (1924b) postuliert „insbesondere bei den Vögeln eine Neubildung von Inseln nach dem Prinzip der Azinusendifferenzierung als einen regelmäßig auftretenden Entwicklungsvorgang schon deswegen, ... weil ... von vornherein schon zu wenig differenzierungsfähiges Gangepithel vorhanden

A-Gewebe	Aktivität	Involution	B-Gewebe
	Kernschwellung, gelegentlich vermehrtes Auftreten von Lang- und Riesenkernen.	Kernverkleinerung, im Extrem hyperchromatische, pyknotische oder verdämmende Kerne mit unregelmäßiger Membran (Karyolyse).	Kernschwellung, verbunden mit starker Vermehrung der Langkerne, Auftreten runder Rieskerne.
	Nukleolus vergrößert, oft sehr unregelmäßig gestaltet und in Verbindung mit Randstüften.	Nukleolus verkleinert, Konturen bisweilen stark abgerundet.	Nukleolus vergrößert, sehr unregelmäßig gestaltet und in Verbindung mit Randstüften.
	Granulierung gleichmäßig dicht in der ganzen Zelle verteilt, in jungen und regenerierenden Zellen sehr feine Granula.	Granulierung stark verdichtet oder bei verkleinertem Zelleib gelichtet oder auch ganz fehlend (C-Zelle).	Granulierung häufig an Kapillaren verdichtet oder völlig fehlend.
	Zelleib stark gestreckt, bisweilen flammenförmig. Während des Höhepunktes der Aktivität Fehlen von C- und Schrumpfzellen.	Mehrzahl der Zellen kubisch oder polyedrisch. Vermehrung der Schrumpf- und C-Zellen.	Zelleiber stark gestreckt, bisweilen flammenförmig.
	Stark gestreckte Zellen entlang der Kapillaren aufgereiht, wobei die Kerne stets kapillarform liegen, so daß die Inseln einen geordneten Eindruck machen; gelegentlich auch rosettenartige Zellagerung um stark erweiterte Kapillaren. Hyperämie der Inselränder (Transformationsbilder ?)	Zellen nur teilweise Kapillaren berührend, Inselbild infolge regelloser Kernlagerung „ungeordnet“, an manchen Stellen sehr dichte Lagerung von relativ kleinen Kernen, Abspaltung von „Kernhaufen“.	Stark gestreckte Zellen an Kapillaren aufgereiht, im Höhepunkt der Aktivität jede granuliertete Zelle mit Kapillaren in Berührung.
			Keine Schrumpfzellen.
			Inseln rührer besonders an Stellen mit ausläuferartigen Plasmoiden unscharf (Transformationen ?), sonst aber abgerundet.
			Während des Höhepunktes der Hyperplasie Bindegewebefasern der Inseln oft kaum sichtbar.
			„Einfangen“ exokriner Elemente.
			Vermehrtes Auftreten kleiner, aus Kernhaufen (auch durch Transformation?) entstandenen Inseln. Konfluenz mit anderem Inselgewebe.
			Aufspaltung der Inseln durch eindringende Azini.
			Während der Aktivitätsphase beider Inselkomponenten vermehrtes Auftreten kleiner Gänge, die zur Zeit der Inselatrophie ebenfalls rückgebildet werden.

ist". Dem ist für die Amsel entgegenzuhalten, daß hier aus den temporär gar nicht seltenen kleinen Gängen durchaus eine Neubildung von Inselgewebe erfolgen kann (Abb. 5) und daß außerdem das Inselgewebe selbst Regenerationspotenz besitzt, was sich in der zu bestimmten Zeiten auftretenden Neubildung von Plasmodien am Rande der B-Inseln (Abb. 14 und 15) dokumentiert. Es sei jedoch betont, daß sich diese Feststellungen nur auf die Amsel beziehen; das unterschiedliche Regenerationsvermögen bei Säugern (FERNER 1952) warnt vor Verallgemeinerungen. Außerdem scheint mir eine Transformation für beide Gewebe-

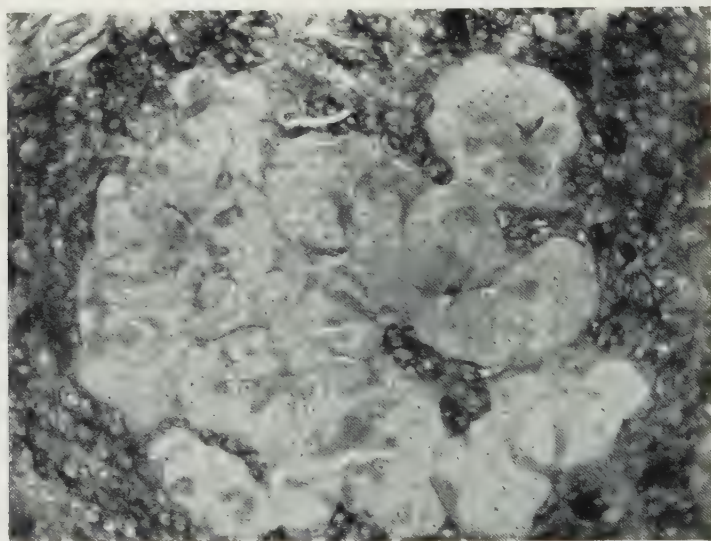


Abb. 10. „Hyperplastische“ A-Insel (Stadium 1) mit „eingefangenen“ exokrinem Gewebe und dunkel hervortretenden D-Zellen. Beachte die langgestreckten Zelleiber und abgerundeten Inselkonturen. Wie Abb. 4

arten besonders auf dem Weg über die Plasmodien nicht ausgeschlossen zu sein, da gerade bei der erwachsenen Amsel in den Randzonen beider Inseln öfters einzelne oder kleine Gruppen von Zellen der anderen Art anzutreffen sind. Auch FALLER (1954, 1955) beschreibt die Neubildung von B-Zellen aus A-Plasmodien alloxan- und dialursäurebehandelter Ratten.

g) Die Jahresperiodik. Die Veränderungen der A-Inseln. Stadium 1: Aktivität. Etwa Mitte Mai bis Mitte Juli, also etwa in der zweiten Hälfte oder am Ende der Brutzeit, beginnt die Reaktivierung des zu diesem Zeitpunkt stark rückgebildeten A-Gewebes. Die Zellen strecken sich sehr stark, ihre Kerne werden groß und bläschenförmig und die Konturen der Inseln runden sich ab. C-Zellen und andere degenerierenden Elemente verschwinden fast völlig, und man kann zwischen frisch regenerierten oder neugebildeten A-Zellen mit feinerer Granulation und älteren mit kräftigeren Körnchen unterscheiden. Schließlich fällt in den Inseln eine gewisse Ordnung auf, die durch die Stränge der vollgranulierten, sehr hohen und bisweilen flammenförmigen A- und D-Zellen mit stets kapillarfern gelegenen Kernen bedingt ist. Kleine, aus Kernhaufen, „Inselplittern“ und vielleicht auch durch Transformationen entstandene Inselchen zeigen starke Vergrößerung und Konfluenz, wobei nicht selten exokrine Elemente eingefangen werden (Abb. 10).

Stadium 2. Beginnende Involution. Schon während oder kurz nach der Mauser, gleichzeitig mit dem B-Gewebe zeigt auch das A-Gewebe die ersten Rückbildungserscheinungen, die sich zunächst in etwas dichterem Lagerung von Zellkernen in einzelnen Randgebieten der Inseln andeuten. Sodann mehren sich diese Gebiete der „Unordnung“; es treten bisweilen C- und Kolloidzellen auf und manche Kerne zeigen Hyperchromasie. In vielen Fällen wird bereits eine Verkleinerung der Zelleiber deutlich. Besonders typisch für diese Phase ist neben der Involution kleiner Inseln das vermehrte Auftreten von hyperchromatischen

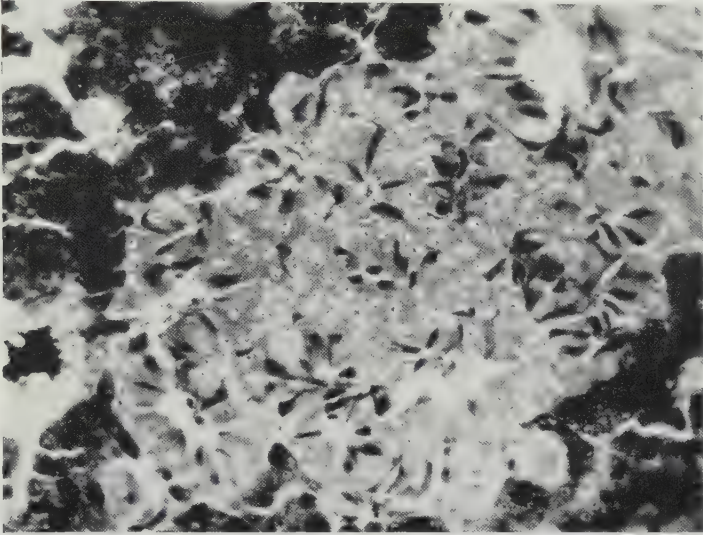


Abb. 11. Beginnende Rückbildung des A-Gewebes (Stadium 2). Teil einer A-Insel mit langgestreckten, hyperchromatischen Schrumpfzellen. Kombinierte Scott-Heidenhain-Färbung, 400fach, Grünfilter

Schrumpfzellen, die zwischen noch wenig veränderten langen Zellen eingeklemmt sind (Abb. 11). Die kleinen Pankreasgänge atrophieren, und infolge des Vordringens exokrinen Gewebes verlieren die Inseln ihre runden Konturen; sie erscheinen an den Rändern gezackt (Abb. 11, 12).

Stadium 3. Bereits im Dezember sind die A-Inseln mancher Tiere stark rückgebildet, und es finden sich vielfach C-Zellen mit zum Teil hyperchromatischen oder pyknotischen Kernen. Die Mehrzahl der A-Zellen enthält eine lockere, recht grob erscheinende Granulierung. Auch die Gestalt der Zellen wechselt sehr: manche sind langgestreckt und bilden kurze Reihen entlang den Kapillaren, die meisten jedoch sind klein und polyedrisch und zeigen keine Beziehung zu Kapillaren. Kolloid- und insbesondere Schrumpfzellen sind häufig, die Kernlagerung ist allgemein verdichtet, innerhalb der Inseln läßt sich keine charakteristische Ordnung der Zellen mehr erkennen. Kernhaufen liegen teils am Inselrand oder sind bereits völlig isoliert. Manche Inseln bestehen überwiegend aus Zellen mit hyperchromatischen und pyknotischen Kernen (Abb. 13).

Die Veränderungen der B-Inseln. Stadium 1a: Beginnende Aktivierung. Gleichzeitig mit dem A-Gewebe zeigt auch das B-Gewebe Reaktivierung. Die Zellen der perikapillaren Zellreihen vergrößern sich, aus Inseln splitteln, die bisweilen nur aus 1—2 Zellen bestehen, sowie aus Kernhaufen und vielleicht auch

durch Transformation entstehen kleine Inseln. Die Zellen der Spiralinseln ordnen sich entlang neu hinzutretenden Kapillaren. Das Kernvolumen aller Zellen

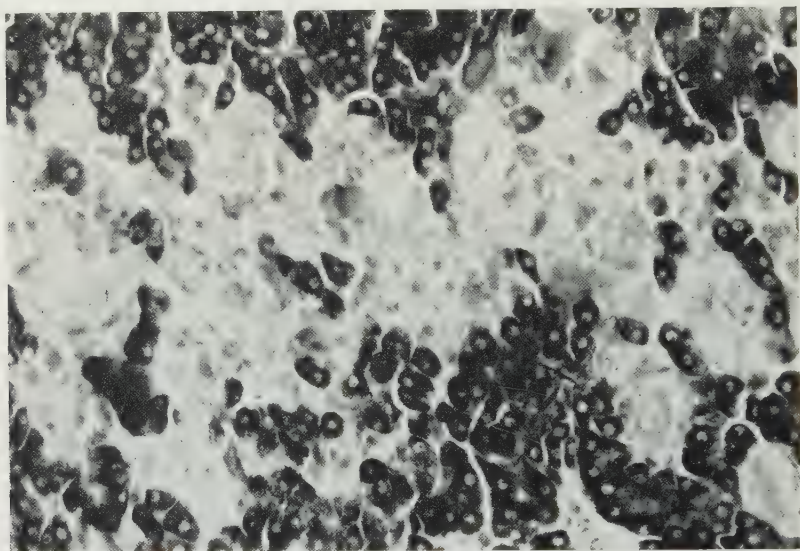


Abb. 12. Fortgeschrittene Rückbildung des A-Gewebes (Stadium 2—3). Eindringendes exokrines Parenchym spaltet eine Insel. Keine hyperchromatischen Schrumpfungszellen mehr, aber vielerorts hyperchromatische Kerne. Wie Abb. 4

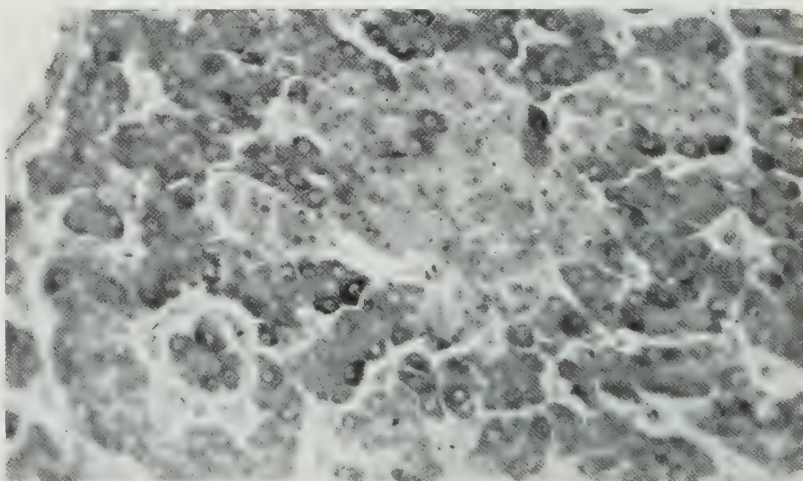


Abb. 13. Stark rückgebildete A-Insel mit vielen hyperchromatischen und pyknotischen Kernen. Wie Abb. 4

nimmt zu, hyperchromatische und pyknotische Kerne verschwinden. An Inselrändern und aus neu entstandenen kleinen Gängen bilden sich Plasmodien, deren zunächst ungranulierte Zellen bald Körnelung zeigen. Die Zahl der Langkerne nimmt stark zu (Abb. 5 und 14).

Stadium 1b: Höhepunkt der Aktivität. Kurz vor oder zu Beginn der Mauser entstehen durch starke Gewebeerneuerung und Konfluenz der kleineren Inseln

große Inseln (Abb. 15), deren lange Zellen mit ihrer an den Kapillaren verdichteten Granulierung verstärkte Aktivität anzeigen. Von diesen Inseln aus drängt

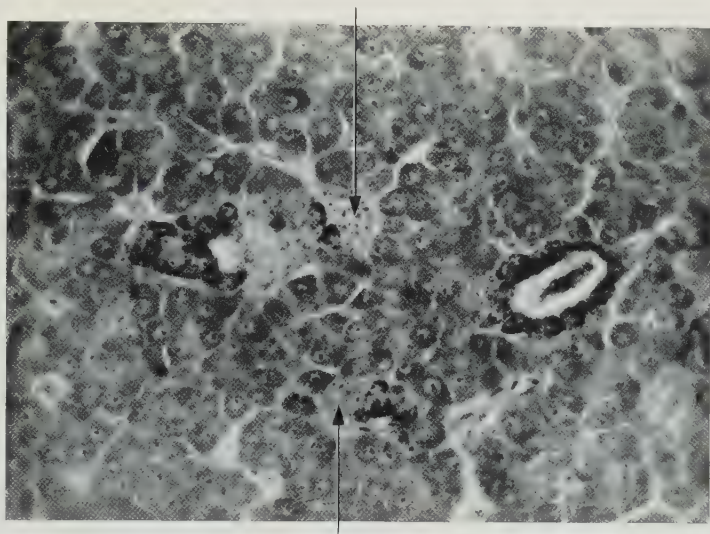


Abb. 14. Beginn der sommerlichen Aktivierung des B-Gewebes (Stadium 1a). Am Rande von Inseln bilden sich zunächst mehr kernhaufenartige Plasmodien (Pfeil). Wie Abb. 4

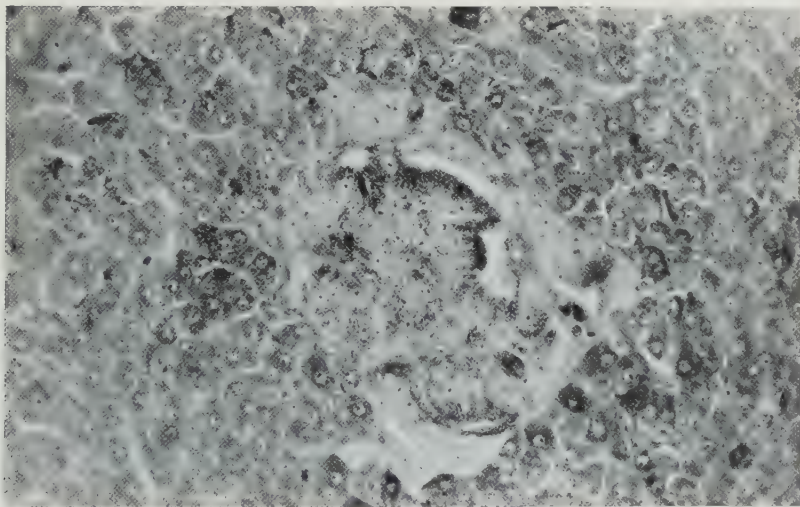


Abb. 15. Große, „hyperplastische“ B-Insel mit Randplasmodien (Stadium 1b). Wie Abb. 4

mancherorts ungranuliertes, zum Teil plasmodiales Inselgewebe das exokrine Parenchym zurück oder schickt „Ausläufer“ zwischen die Azini. An solchen Stellen ist die Grenze zwischen beiden Geweben unscharf, wie überhaupt die Bindegewebefasern der Inselränder sehr stark zurücktreten.

Stadium 2: Beginnende Involution. Mit dem A-Gewebe zusammen zeigt auch das B-Gewebe gegen Ende oder nach der Mauser beginnende Regression. Die Bindegewebefasern treten stellenweise stark hervor, die Plasmodien fehlen,

aber die Langkerne fallen zunächst noch stark auf. In der Folgezeit verschwinden die Kapillaren vielerorts und die Zelleiber schrumpfen an solchen Stellen mehr oder minder stark. Die Kerne verkleinern sich und die Granulation wird lichter.

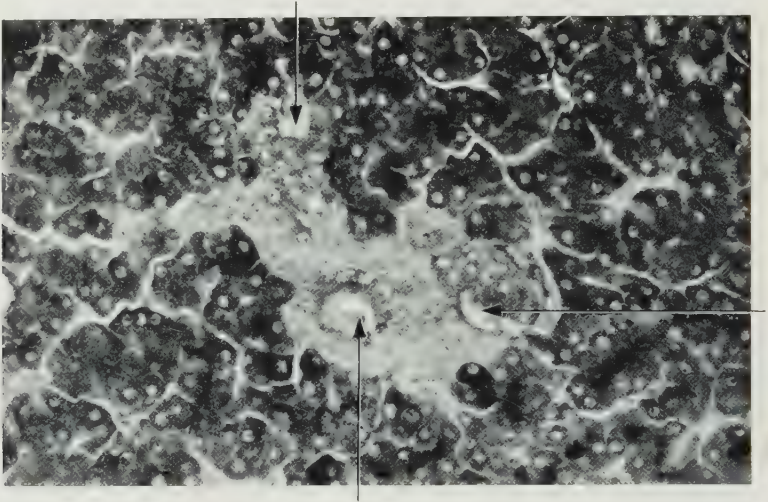


Abb. 16. Beginnende Involution des B-Gewebes (Stadium 2). B-Insel dissoziiert zu perikapillaren Zellreihen (Pfeile). Wie Abb. 4

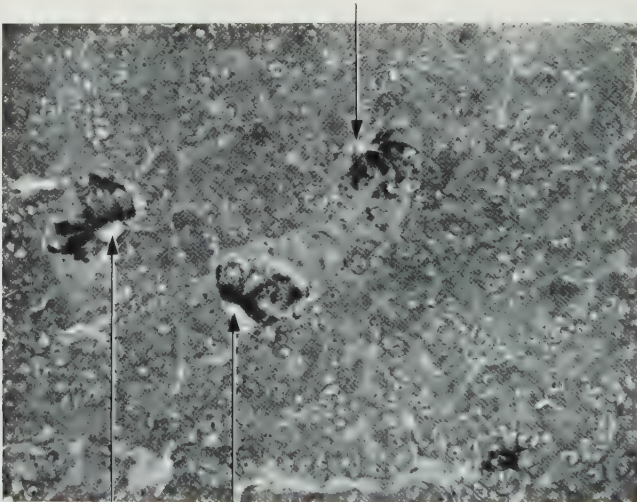


Abb. 17. Fortgeschrittene Involution des B-Gewebes (Stadium 2—3). Insplitter bilden sich unter Zurücktreten von Kapillaren (Pfeile) in Spiralinseln um. Vgl. Abb. 6. Wie Abb. 4

Die großen Inseln werden in perikapillare Zellreihen, Kernhaufen und Spiralinseln aufgespalten (Abb. 16, 17).

Stadium 3: Starke Involution. In diesem Stadium, das wie das entsprechende der A-Inseln bisweilen schon im Dezember erreicht ist, fehlen die Langkerne fast völlig und hyperchromatische, pyknotische oder verdämmernde Kerne sind sehr häufig. Kernhaufen verschiedener Größe lassen höchstens noch durch ihre Lage ihre Herkunft aus dem B-Gewebe erkennen. Nur selten sind noch mehrere peri-

kapillare Zellreihen zu einer Insel vereinigt. Die Zellen zeigen entweder mäßige Größe und sehr schwach färbende lichte Granulierung, oder sie sind sehr klein und mit intensiv gefärbten Granula so dicht gefüllt, daß ihre Konturen teilweise

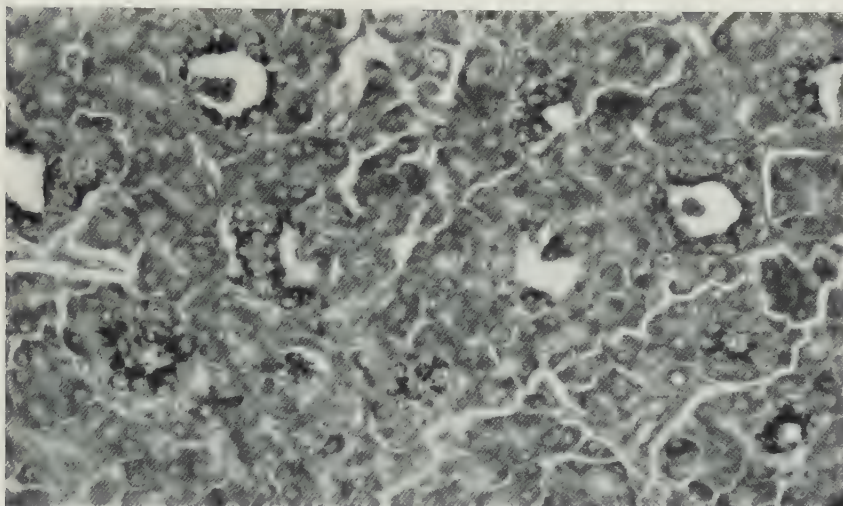


Abb. 18. Perikapillare Zellreihen als Reste einer aufgesplitterten B-Insel (Stadium 3). Beachte die kleinen, dicht granulierten Zelleiber. Wie Abb. 4

nicht mehr klar erkennbar sind (Staubilder, Abb. 18). Mancherorts fehlt die Körnelung völlig. Außerdem treten vermehrt Kolloidzellen auf.

Die Ergebnisse der jahresperiodischen Untersuchung und die Daten des Materials sind in Tabelle 2 und Abb. 19 zusammengefaßt. Daraus läßt sich ersehen:

1. daß sich A- und B-Gewebe bei einem Tier durchweg im selben Aktivitätsstadium befinden;

2. daß das Inselgewebe gegen Ende oder nach der Brutzeit, d. h.

vor oder während der Mauser sein jahresperiodisches Aktivitätsmaximum erreicht, das gegen Ende oder nach der Mauser wieder von einer Involution gefolgt ist, die zwischen Dezember und Mai ihren Höhepunkt erreicht. Nur wenige Tiere zeigen ein abweichendes Verhalten im Januar, Februar und März.

3. daß zwischen Körpergewicht und Inselaktivität keine positive Korrelation besteht.

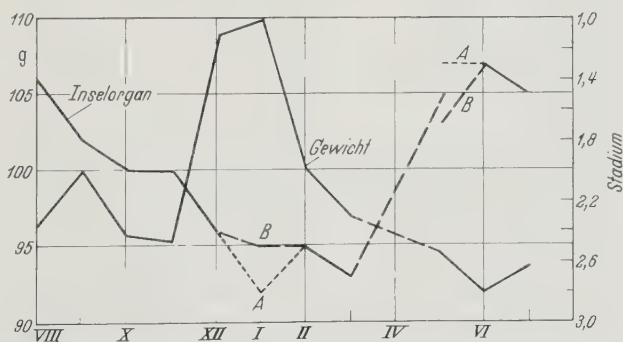


Abb. 19. Körpergewicht und Aktivitätsstadien des Inselgewebes des Untersuchungsmaterials, nach monatlichen Durchschnittswerten aufgetragen

Tabelle 2. Das jahresperiodische Untersuchungsmaterial

Nr.	Datum	Geschlecht	Alter	Gewicht	Fettansatz	Gefieder	Gonade	Aktivität des Inselgewebes	
								A	B
VIII/1	5. 8. 58	O ₃	ad.	101	wenig	—	klein	1	1 b
VIII/2	5. 8. 58	O ₃	iuv.	84,5	—	—	klein	1	1 b
VIII/3	5. 8. 58	O ₃	iuv.	96,5	—	—	klein	1	1 b
VIII/5	26. 8. 58	O ₃	iuv.	102,5	—	Mauser	—	2	2
VIII/6	26. 8. 58	O ₃	iuv.	97	—	Mauser	—	2	2
IX/1	3. 9. 58	O ₃	ad.	102,6	—	Mauser	—	1	1 b
IX/2	3. 9. 58	O ₃	iuv.	98	—	Mauser	—	2	2
IX/3	4. 9. 58	O ₃	iuv.	96,5	—	Mauser	—	2	2
IX/4	4. 9. 58	O ₃	ad.	92	—	Mauser	—	2	2
IX/5	4. 9. 58	O ₃	iuv.	99	—	Mauser	—	2	2
IX/6	4. 9. 58	O ₃	ad.	102	—	Mauser	—	2	2
					keine Mauser mehr				
X/0	6. 10. 58	O ₃	iuv.	93,5	—	—	—	2	2
X/01	6. 10. 58	O ₃	ad.	104	—	—	—	2	2
X/1	21. 10. 58	O ₃	ad.	99,5	—	—	—	2	2
X/2	21. 10. 58	O ₃	ad.	86	—	—	sehr klein	2	2
X/3	21. 10. 58	O ₃	iuv.	107,5	wenig	—	klein	2	2
X/4	22. 10. 58	O ₃	iuv.	91	wenig	—	—	2	2
X/5	22. 10. 58	O ₃	iuv.	96,5	wenig	—	—	2	2
X/6	22. 10. 58	O ₃	iuv.	89	wenig	—	—	2	2
X/7	22. 10. 58	O ₃	iuv.	94	wenig	—	—	2	2
X/8	29. 10. 58	O ₃	ad.	95,5	wenig	—	klein	2	2
XI/1	1. 11. 58	O ₃	ad.	97	—	—	—	2	2
XI/2	12. 11. 58	O ₃	ad.	93,5	kein Fett	—	—	2	2
XII/1	2. 12. 58	O ₃	iuv.	108	viel	—	sehr klein	2	2
XII/2	2. 12. 58	O ₃	ad.	109,5	viel	—	sehr klein	2	2
XII/3	2. 12. 59	O ₃	ad.	111	viel	—	sehr klein	3	3
XII/4	2. 12. 58	O ₃	ad.	102	viel	—	sehr klein	2	2
XII/5	2. 12. 58	O ₃	iuv.	126	viel	—	sehr klein	3	3
XII/6	2. 12. 58	O ₃	iuv.	103	viel	—	sehr klein	3	3
XII/7	2. 12. 58	O ₃	iuv.	103	viel	—	sehr klein	2	2
I/1	6. 1. 59	O ₃	ad.	122	viel	—	sehr klein	3	1
I/2	6. 1. 59	O ₃	ad.	114	viel	—	sehr klein	3	3
I/3	6. 1. 59	O ₃	—	108	viel	—	sehr klein	3	3
I/4	6. 1. 59	O ₃	—	116	viel	—	sehr klein	3	3
I/5	26. 1. 59	O ₃	—	111	viel	—	sehr klein	3	3—1 a
I/6	26. 1. 59	O ₃	—	112	viel	—	sehr klein	2—1	2—1
I/7	26. 1. 59	O ₃	—	106,5	viel	—	sehr klein	3	3
I/8	26. 1. 59	O ₃	—	99	viel	—	sehr klein	3	3
I/9	26. 1. 59	O ₃	—	101	viel	—	sehr klein	3	3
II/1	26. 1. 59	O ₃	—	92,5	wenig	—	—	3—1 a	3—1 a
II/2	26. 1. 59	O ₃	—	93	sehr wenig	—	—	3	3
II/3	26. 1. 59	O ₃	—	105	sehr wenig	—	—	3—1 a	3—1 a
II/4	26. 1. 59	O ₃	—	110	viel	—	—	3	3
III/1	4. 3. 59	O ₃	—	99	kein Fett	—	sehr groß	3	3
III/2	11. 3. 59	O ₃	—	91	kein Fett	—	groß	3	3
III/3	11. 3. 59	O ₃	—	89	kein Fett	—	sehr groß	3	3
III/4	11. 3. 59	O ₃	—	100	viel	—	sehr groß	3—1	3—1
V/1	2. 5. 59	O ₃	—	92	kein Fett	—	sehr groß	1	3—1
V/2	11. 5. 59	O ₃	—	97	kein Fett	—	sehr groß	3—1	3—1
V/3	12. 5. 59	O ₃	—	95	kein Fett	—	sehr groß	1	1 a

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Nr.	Datum	Geschlecht	Alter	Gewicht	Fettansatz	Gefieder	Gonade	Aktivität des Inselgewebes	
								A	B
VI/1	9. 6. 59	♂	—	89	kein Fett	—	sehr groß	1	1a
VI/2	9. 6. 59	♂	—	91	kein Fett	—	sehr groß	1	1a
VI/3	9. 6. 59	♂	—	96	kein Fett	—	sehr groß	3—1	3—1
VI/4	9. 6. 59	♂	—	—	—	—	—	1	1a
VII/1	10. 7. 59	♀	—	97	—	—	—	3—1	3—1
VII/2	14. 7. 59	♂	—	89	—	—	sehr klein	1	1a
VII/3	14. 7. 59	♀	—	90	—	Mauser	sehr klein	1	1b
VII/4	14. 7. 59	♂	—	99	—	—	sehr klein	3—1	3—1

2. Der Einfluß von Thyroxin auf Inselorgan und Gefieder des Grünlings (*Chloris chloris* L.)

Nach den Ergebnissen der jahresperiodischen Untersuchung erschien die Frage von besonderem Interesse, ob zwischen der erhöhten Inselaktivität und etwa gleichzeitiger Mauser ein direkter Zusammenhang besteht. Es wurde deshalb geprüft, wie sich das Inselorgan zu einer anderen Jahreszeit bei einer künstlich induzierten Mauser verhält.

Für die Untersuchung dieses Problems empfahl sich besonders der Grünling, da durch eine Arbeit von SCHILDMACHER und RAUTENBERG (1952) die mauserauslösende minimale Thyroxindosis für diese Art bekannt ist und andererseits BENAZZI-LENTATI (1934) beim Grünling durch Thyroxin eine Inselhypertrophie erzielen konnte. Der Versuch fand Ende März statt, wobei sich erwies, daß das Inselorgan des Grünlings — wie das der Amsel — sehr stark rückgebildet ist, mithin eine inselstimulierende Thyroxinwirkung sicher feststellbar sein müßte. Von einer Verwendung der Amsel sah ich ab, da Wildfänge dieser Art auch nach vielen Monaten Gefangenschaft sehr leicht erregbar sind und beim Ergreifen bisweilen Schreckmauser zeigen.

Versuche. 5 männliche Grünlinge wurden etwa 3 Monate lang in Einzelkäfigen eingewöhnt und erhielten 11 Tage lang vom 29. 3. bis 10. 4. 59 täglich um 13 Uhr 0,2 mg Thyroxin „Roche“ intramuskulär, 4 Kontrollen die entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung. Alle Tiere wurden 26 Std nach der letzten Injektion getötet. Am Vorabend des Versuchsbeginns 1 Std nach Einbruch der Dunkelheit, und am Morgen des ersten Versuchstages vor Beginn der Dämmerung sowie zum Zeitpunkt der Tötung wurden die Tiere gewogen. Während der Versuchszeit standen Futter und Wasser ad libitum zur Verfügung.

Ergebnisse. Die Hoden der Versuchstiere waren wie bei zwei männlichen Kontrolltieren stark entwickelt; sie wurden nicht histologisch untersucht. In den Inseln beider Gruppen war das B-Gewebe stark inaktiviert; die kleinen Zellen zeigen sehr dichte Granulierung, die Kerne erschienen bei einigen Tieren zum Teil hyperchromatisch. Die A-Inseln ließen keine klare Anordnung ihrer Zellen entlang den Kapillaren erkennen, dagegen erschien die Kernlagerung sehr dicht und die meist kubischen bis vieleckigen Zelleiber wirkten recht klein. Die Körnelung war im allgemeinen ziemlich locker, stellenweise aber „normal“ oder ganz fehlend (C-Zellen). Eine statistische Prüfung ergab keinen Unterschied in der Kerngröße zwischen den A-Zellen von Versuchstieren und Kontrollen. Die weiteren Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3. *Wirkung schwacher Thyroxindosen auf Gewicht, Gefiederzustand und Fettansatz bei Grünlingen*

Versuchstiere	Gewicht am			Gefiederzustand	Fettansatz
	29. 4.	30. 4.	10. 5.		
V 1, ♂	28,45	25,65	20,50	Mauserbeginn	Alle Tiere sehr mager, keine Fettdepots mehr sichtbar
V 2, ♂	26,65	25,40	22,50	1 Tag mausernd	
V 3, ♂	26,60	25,65	24,70	Mauserbeginn	
V 4, ♂	23,15	22,25	19,25	2 Tage stark mausernd	
V 5, ♂	26,45	25,25	23,45	Mauserbeginn	
Kontrollen					
K 1, ♀	26,05	25,30	25,70	keine Änderungen	stets etwas Darmfett vorhanden
K 2, ♀	27,45	26,35	26,00		
K 3, ♀	26,85	26,05	28,20		
K 4, ♀	33,25	31,15	30,90		

Zusammenfassung. 9—11tägige Injektionen von 0,2 mg Thyroxin zur Zeit der Gonadenreife löste bei männlichen Grünlingen Mauser aus und führte zu gleichzeitigem Gewichtsverlust, der mindestens zum Teil durch Abbau von Depotfetten zu erklären ist. Diese Befunde bestätigen die Ergebnisse von SCHILDMACHER und RAUTENBERG (1952), daß bei Finkenvögeln von 20—30 g Körpergewicht Thyroxindosen von 0,2 mg und mehr den Grundumsatz steigern und gleichzeitig Mauser und Gewichtsabfall bewirken. Das Thyroxin läßt keinerlei Einfluß auf beide Komponenten der Langerhansschen Inseln erkennen, obwohl bei Amseln vor und während der natürlichen Mauser eine starke Entwicklung des Inselorgans zu beobachten ist. Das Inselgewebe ist nach dem Befund an Kontrollen auch beim Grünling während der Gonadenreife inaktiviert. Die Besprechung des Versuches erfolgt im nächsten Kapitel.

V. Besprechung der Befunde

Aus dem jahreszeitlich sehr schwankenden Vorkommen, dem gelegentlichen völligen Fehlen, der Existenz von Übergangsbildern und den teilweise degenerativen Merkmalen wird geschlossen, daß es sich — abgesehen von der D-Zelle — bei den verschiedenen Zellformen im Inselorgan der Amsel nur um Funktionsstadien der A- und B-Zelle handelt. Manche dieser Zellformen erweisen sich als wertvolle Kriterien der Aktivität des Inselgewebes und erlauben mit weiteren, in dieser Arbeit zusammengestellten Merkmalen in den meisten Fällen eine sichere Beurteilung des Funktionszustandes für beide Inselarten des Pankreas der Amsel und *cum grano salis* auch bei weiteren Vogelarten. (Bisher konnten ihre Brauchbarkeit bei Star, Rotkehlchen, Grünling und Dorngrasmücke nachgeprüft werden.)

Die Untersuchung der Jahresperiodik des Inselorgans ergab, daß die festzustellenden starken Veränderungen der Inseln der Ausdruck einer jahreszeitlich sehr unterschiedlichen sekretorischen Aktivität sind. Daraus folgt, daß

1. eine Beschreibung des Inselorgans bei Vögeln in besonderem Maße die dynamischen Möglichkeiten des „fertig“ entwickelten Organs berücksichtigen muß;
2. viele Versuche an Vögeln eine genaue Kenntnis des jeweiligen jahresperiodischen Zustandes voraussetzen, da beispielsweise eine Stimulation an einem bereits hyperplastischen Inselorgan histologisch kaum zu fassen sein dürfte;

3. es nicht zugänglich ist, Änderungen des Inselorgans erwachsener Tiere ohne weiteres als Folge des Alterns aufzufassen.

Jahresperiodische Untersuchungen des Inselorgans scheinen nur für einige Fischarten (SCHÄTZLE 1954) und winterschlafende Säuger (Literatur bei PORTIUS und RATHS 1957; MOSCA 1959) vorzuliegen, wobei jedoch die Frage nach einer Verschiebung der A/B-Relation im Vordergrund stand. Es wurde bei Säugern entweder keine oder eine Änderung zugunsten der B-Zellen festgestellt. Daß die — ohne Berücksichtigung der A/B-Relation — bei der Amsel beobachtete Jahresperiodik beider Inselkomponenten einen auf diese Spezies beschränkten Sonderfall darstellt, ist äußerst unwahrscheinlich. Vielmehr darf man annehmen, daß zahlreiche weitere Arten von Kleinvögeln und ständig homöothermen Säugern ebenfalls eine ausgeprägte Jahresperiodik des Inselorgans besitzen, wie sie auch für andere endokrine Drüsen (z. B. Schilddrüse, Nebennierenrinde, Gonaden, Hypophyse, Neurosekretion) und sonstige Organe (z. B. Fettgewebe, Leber, Milz) bekannt ist. Freilich werden gerade bei Säugern derartige Änderungen infolge der anders gebauten Inseln unauffälliger vor sich gehen und viel leichter verkennbar sein. Wahrscheinlich beruhen auch OAKBERGS (1949) Ergebnisse an Hühnern zum Teil auf jahresperiodischen Veränderungen, welche der Verfasser allerdings als Funktion des Alters auffaßt: Zunahme der A-Inselzahl vom 1.—100. Tag, der B-Inselzahl bis zum 300. Tag, dann Abnahme des A-Inseldurchmessers vom 200. Tag an und Verminderung des B-Gewebevolumens vom 100. Tag an. Hier könnte wie bei der Amsel eine jahresperiodische Inselinvolution zur Verkleinerung der A-Inseln und Aufspaltung der B-Inseln geführt haben.

Entgegen den Erwartungen zeigt die Jahresperiodik des Inselorgans ein erstaunlich gleichartiges Verhalten beider Inselkomponenten und unterstreicht so den Synergismus zwischen Insulin und Glukagon, den auch BÜRGER (Literatur bei SCHULZE 1956) stets betonte.

Ein ausführlicher Vergleich mit dem Verhalten anderer endokriner Drüsen muß einer späteren Untersuchung vorbehalten bleiben, da bei den Amseln unseres Gebietes bisher nur die Jahresperiodik der Schilddrüse (BIGALKE 1956) und der Gonaden (makroskopisch) bekannt ist. Sollte die erhöhte Aktivität der Inseln nach der Brutzeit unter dem Einfluß der Schilddrüse stehen, so müßte die Wirkung der erhöhten Thyroxinabgabe zur Zeit stärkster Gonadenaktivität unterdrückt worden sein, vielleicht genauso, wie bestimmte Gonadenhormone die Auslösung der Mauser hemmen (SCHILDMACHER 1958; TANABE u. Mitarb. 1957; KOBAYASHI 1958).

Der Versuch mit Grünlingen ergab, daß mauserauslösende Thyroxingaben zur Zeit der Gonadenreife keine histologisch erkennbare Wirkung auf das Inselorgan ausüben. Falls die endokrine Auslösung dieser künstlichen Mauser nicht grundsätzlich verschieden sein sollte von der der natürlichen Sommermauser der Amsel, so darf man aus diesem Versuch schließen, daß das hyperplastische Inselorgan der Amsel zur Zeit der Sommermauser keinen spezifischen Einfluß auf diese ausübt, sondern hier nur eine zeitliche Korrelation vorliegt. Dabei könnten Insel-, „hyperplasie“ und Mauser jedoch nach dem weiter oben Gesagten durchaus einer gemeinsamen Steuerung durch die Schilddrüse unterliegen.

Ein stimulierender Einfluß der Schilddrüse auf das Inselorgan wurde vielfach beobachtet (Literatur bei BARGMANN 1939), dürfte aber in seinem Mechanismus

besonders im Hinblick auf den Kohlenhydratstoffwechsel sehr komplex sein (LUKENS 1959). Nach den Befunden von ELGEE und WILLIAMS (1955a und b) ist weiterhin damit zu rechnen, daß erhöhte Thyroxinausschüttung einen vermehrten Insulinabbau nach sich zieht, so daß eine Stimulation der Inseln auch auf diesem Wege denkbar erscheint. Da vermutlich während und nach der Brutzeit eine erhöhte Prolaktinsekretion erfolgt (vgl. LOFTS und MARSHALL 1956), konnte auch dieses Hormon die Insel„hyperplasie“ steuern, vielleicht gemeinsam mit dem anscheinend zur gleichen Zeit von beiden Geschlechtern sezernierten Progesteron (LOFTS und MARSHALL 1959). Die inselstimulierende Wirkung von Prolaktin (FUNK u. Mitarb. 1941; MILLER 1942; FOA u. Mitarb. 1955a und b; HOUSSAY u. Mitarb. 1955) wie Progesteron (KERR u. Mitarb. 1952) konnte experimentell gezeigt werden. Besondere Beachtung verdient weiterhin die von HAUSBERGER (1959) propagierte Möglichkeit, daß eine Inselaktivierung durch Steigerung der Nebennierenrindentätigkeit erfolgen kann, die ihrerseits wieder durch Rückbildung der Gonaden bewirkt wird.

Das Hauptinteresse dieser Untersuchung galt der Korrelation von Inselaktivität und Gewichtszyklik. MERKEL (1956, 1958b) hat festgestellt, daß bei vielen Dorngrasmücken dem herbstlichen, mit Auslösung der Zugunruhe gekoppelten Gewichtsanstieg eine weitere Steigerung nach Beendigung der Zugunruhe erfolgt. Auch bei Rotkehlchen erhöht sich im Mittwinter das Gewicht, ohne in den meisten Fällen zu einer Zugauslösung zu führen. Auf Grund der Motilität, der Kloakaltemperatur und des Futterverbrauches wurde geschlossen, daß dieser winterliche Gewichtsanstieg von dem in den Zugzeiten auftretenden zu trennen und auf eine Gesamtinaktivierung der Tiere zurückzuführen sei. Das bei der Amsel zu beobachtende hohe Wintergewicht wäre damit zu vergleichen. Somit kann anhand dieser Untersuchung noch nichts darüber ausgesagt werden, wieweit das Inselorgan am Zustandekommen des mit Zugunruhe gekoppelten Gewichtsanstieges von „Instinktvögeln“ beteiligt ist. Die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Befunde, daß die stärkste Fettablagerung bei atrophierendem Inselorgan erfolgt und sich keine positiven Beziehungen zwischen Fettansatz und Inselaktivität feststellen lassen (Tabelle 2, Abb. 19), zeigen aber, daß die winterliche Adiposität der Amsel nicht durch einen Antagonismus zwischen B-Zellen einerseits und Schilddrüse und Gonaden andererseits zu erklären ist.

Bei den im Vorfrühling auftretenden Ausnahmen von der Jahresperiodik findet sich ein eindeutig divergierendes Verhalten beider Inselzellarten nur bei einem Tier (I/1), wobei das B-Gewebe entgegen den Befunden an den übrigen Tieren zu dieser Zeit stark aktiviert ist (große Plasmodien!), während das A-Gewebe atrophiert. Eine Deutung kann ich nicht geben. In den anderen Fällen (I/5, I/6, II/1, II/3, III/4) sind A- und B-Gewebe im gleichen Aktivitätsstadium. Hier fällt auf, daß die Inseln sich zwar durch viele degenerierende Elemente und ihre Kleinheit „zeitgemäß“ verhalten, aber andererseits an manchen Stellen leichte Hypertrophie unverkennbar ist. Es war also entgegen dem „Grundtonus“ eine Aktivierung erfolgt, die, wenn man die Verhältnisse bei anderen Tieren zur selben Zeit als Vergleich heranzieht, wahrscheinlich noch nicht die sommerliche Aktivitätsperiode eingeleitet hätte. Da an den Tieren selbst keine Besonderheiten aufgefallen waren, wurde der Witterungsverlauf zur Zeit ihrer Tötung nachgeprüft. Da erwies sich, daß in allen 3 Fällen (am 26. 1., 26. 2, und 11. 3., s. Tabelle 2) seit 3—4 Tagen die Temperatur stark im Fallen war. Somit könnte das

abweichende Verhalten vielleicht durch eine Verschlechterung der Stoffwechselsituation oder durch besondere Belastung infolge von Wanderungen begründet sein, da bei winterlichen Temperaturänderungen in unserem Gebiet stets ein starker Vogelzug (Amseln, Rotkehlchen, gelegentlich auch Meisen; eigene Beobachtungen) festzustellen ist. Der Fettansatz bei Amsel III/4 braucht dieser Deutung nicht zu widersprechen, da bei Kleinvögeln die tägliche, durch Auf- und Abbau der Depotfette verursachte Gewichtsschwankung sehr hoch sein kann; bei meinen gefangenen Amseln betrug sie zu dieser Zeit etwa 10%.

Abschließend betone ich noch einmal, daß die Verhältnisse bei der Amsel zur Zeit der Adiposität vorerst keinen Schluß auf das Zustandekommen der viel ausgeprägteren, zweigipfligen, mit der Zugdisposition verbundenen Fettablagerung bei „innenweltbedingten“ Zugvögeln erlauben, für die durch die Untersuchungen von MERKEL und die Schule von FARNER feststeht, daß sie regulatorisch und metabolisch gesteuert wird.

Zusammenfassung

1. Eine Untersuchung des Inselorgans der Amsel ergibt:

a) A- und B-Zellen sind weitgehend in „dunkle“ und „helle“ Inseln getrennt, Mantelinseln sind selten, doch finden sich öfters in beiden Inselarten einzelne Vertreter oder kleine Gruppen der anderen Zellart.

b) Beide Inselarten können aus Kernhaufen entstehen und bei Involution wieder Kernhaufen bilden.

c) Auch bei der erwachsenen Amsel kann neues Inselgewebe durch Selbstvermehrung und Neubildung aus kleinen Gängen entstehen.

d) Die „dunklen“ Inseln enthalten außer den typischen A-Zellen weitere Zellformen (D-, Kolloid-, schrumpfende und ungranulierte Zellen), die mit Ausnahme der D-Zelle und eines Teiles der schrumpfenden Zellen als Funktionsstadien der A-Zelle aufgefaßt werden.

e) In den „hellen“ Inseln finden sich granulierte, ungranulierte und kolloidhaltige B-Zellen.

f) Gestalt und cytologische Zusammensetzung beider Inselarten zeigen starke *jahresperiodische Schwankungen*, die eingehend analysiert werden.

2. Mit Hilfe für das Inselorgan der Amsel zusammengestellter Aktivitätskriterien wird festgestellt:

a) Die jahresperiodische Aktivität beider Inselarten läuft parallel, beide Inselarten befinden sich bei einem Tier durchweg im gleichen Aktivitätszustand.

b) Das Maximum der jahresperiodischen Aktivität liegt in der Zeit vor oder zu Beginn der Mauser. Die danach einsetzende Involution erreicht in der Zeit zwischen Dezember und Mai ihren Höhepunkt. Während oder nach der Brutzeit setzt die Reaktivierung des Inselorgans wieder ein.

3. Das Inselorgan zeigt zur Zeit der winterlichen Fettablagerung verminderte Aktivität.

4. Um festzustellen, ob zwischen erhöhter Aktivität des Inselorgans und der etwa gleichzeitigen Mauser ein Zusammenhang besteht, wird bei Grünlingen zur Zeit der Gonadenreife durch Thyroxininjektionen eine künstliche Mauser ausgelöst. Das Inselorgan bleibt dabei völlig inaktiv. Die Möglichkeiten einer endokrinen Steuerung der Inselhyperplasie werden besprochen.

Literatur

- ALTMANN, H. W.: Über den Funktionsformwechsel des Kernes im exokrinen Gewebe des Pankreas. *Z. Krebsforsch.* **58**, 632—645 (1952).
- BARGMANN, W.: Kolloidbildung im Inselgewebe des Pankreas von *Scorpaena porcus*. *Z. Zellforsch.* **27**, 450—454 (1937).
- Die Langerhansschen Inseln des Pankreas. In *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bd. VI/2. Berlin: Springer 1939.
- BENAZZI-LENTATI, G.: Isole del Langerhans e glicogenesi epatica nell'ipertiriodizzazione. *Riv. Biol.* **16**, 237—244 (1934).
- BENSLEY, R. R.: Studies on the pancreas of the guinea pig. *Amer. J. Anat.* **12**, 297—388 (1911/12).
- BIGALKE, R.: Über die zyklischen Veränderungen der Schilddrüse und des Körpergewichtes bei einigen Singvögeln im Jahresablauf. Diss. Frankfurt a. M. 1955.
- BUCHER, O.: Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. *Protoplasmatologia*. VI. Kern- und Zellteilung. E. Amitose. I. Metazoen-Zelle. Wien: Springer 1959.
- CAESAR, R.: Zur Zytologie der Inselorgane von Teleostiern, mit besonderer Berücksichtigung des Kolloidvorkommens. *Z. Zellforsch.* **40**, 571—584 (1954).
- CAMPENHOUT, E. VAN, et G. CORNELIS: Les îlots endocrines du pancreas des oiseaux. *C. R. Ass. Anat.* **79**, 462—466 (1954).
- CLARA, M.: Das Pankreas der Vögel. *Anat. Anz.* **57**, 257—265 (1924a).
- Studie zur Kenntnis der Langerhansschen Inseln. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **1**, 513—562 (1924).
- Über die physiologische Regeneration der Nebennierenmarkzellen beim Menschen. *Z. Zellforsch.* **25**, 221—235 (1936).
- CLAUSEN, D. M.: Beitrag zur Phylogenie der Langerhansschen Inseln der Wirbeltiere. *Biol. Zbl.* **72**, 161—182 (1953).
- CONN, J. W.: Obesity. II. Etiological aspects. *Physiol. Rev.* **24**, 31—45 (1944).
- ELGEE, N. J., and R. H. WILLIAMS: The fate of insulin in altered metabolic states. *Diabetes* **4**, 8—10 (1955a).
- Effects of thyroid function in insulin- I^{131} degradation. *Amer. J. Physiol.* **180**, 13—15 (1955b).
- FALLER, A.: Die cytotoxische Wirkung von Alloxan und Dialursäure auf die Zellen der Pankreasinseln und die dadurch bedingten Regenerationserscheinungen. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **10**, 221—238 (1954).
- Les phénomènes de régénération cellulaire pancréatique dans les diabètes chroniques par l'alloxane et l'acide dialurique. *Rev. int. Hépat.* **2**, 215—222 (1955).
- FARNER, D. S.: The annual stimulus for migration: experimental and physiologic aspects. In: *Recent studies in avian biology*. Urbana: University of Illinois Press 1955.
- Photoperiodic control of annual gonadal cycles in birds. In: *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals*. Washington, D. C.: American Association for the Advancement of Science 1959.
- FERNER, H.: Das Inselssystem des Pankreas. Stuttgart: Georg Thieme 1952.
- FEYRTER, F.: Über diffuse endokrine epitheliale Organe. Leipzig: Johann Ambrosius Barth 1938.
- FOA, P. P., G. GALANSINO and E. COSTA: Prolactin and the secretion of insulin and glucagon by the pancreas. *Amer. J. Physiol.* **182**, 493 (1955).
- H. R. WEINSTEIN and A. M. MAGILL: Influence of prolactin on blood sugar in normal and depancreatized dogs. *Amer. J. Physiol.* **180**, 313—316 (1955).
- FUNK, C., J. M. CHAMELIN, H. WAGREICH and B. HARROW: A study of hormonal factors which influence the production of insulin. *Science* **94**, 260—261 (1941).
- GOMORI, G.: Studies on the cells of the pancreatic islets. *Anat. Rec. Suppl.* **74**, 439—459 (1939).
- GROEBBELS, F.: Zur Physiologie des Vogelzuges. *Verh. ornithol. Ges. Bayern* **18**, 44—74 (1928).
- Bausteine zu einer Physiologie und Histophysiologie des Zugvogels. *Z. vergl. Physiol.* **12**, 628—702 (1930).
- Der Vogel, Bd. I. Berlin: Gebrüder Bornträger 1932.

- HAMPERL, H.: Über das Vorkommen von Onkozyten in verschiedenen Organen und ihrer Geschwülste (Mundspeicheldrüsen, Bauchspeicheldrüse, Epithelkörperchen, Hypophyse, Schilddrüse, Eileiter). *Virchows Arch. path. Anat.* **298**, 327—375 (1937).
- HAUSBERGER, F. X.: Die Ätiologie einiger Fettsuchtformen bei Tieren. *Münch. med. Wschr.* **101**, 1301—1307 (1959).
- HELLMAN, B., and C. HELLERSTRÖM: The islets of Langerhans in ducks and chickens with special reference to the argyrophil reaction. *Z. Zellforsch.* **52**, 278—290 (1960).
- HIRSCH, G. CH.: Dynamik der tierischen Zelle. In *Handbuch der Biologie*, 1. Konstanz: Akademische Verlagsgesellschaft Athenaion Dr. Albert Hachfeld 1959.
- HOSEMANN, H.: Die Grundlagen der statistischen Methoden für Mediziner und Biologen. Stuttgart: Georg Thieme 1949.
- HOUSSAY, B. A., E. ANDERSON, R. W. BATES and CHOH HAO LI: Diabetogenic action of prolactin. *Endocrinology* **57**, 55—59 (1955).
- KAMEMOTO, F. I., A. OKSHE, H. E. CHENEY and D. S. FARNER: A photoperiodically induced alteration of intermediary metabolism in migratory birds. *Anat. Rec.* **131**, 570 (1958).
- KERR, E. H., J. C. STEARS, J. MACDOUGALL and R. E. HAIST: Influence of gonads on growth of islets of Langerhans. *Amer. J. Physiol.* **170**, 448—455 (1952).
- KING, J. R.: Premigratory adiposity in the white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). Doctoral Thesis, State College of Washington, Pullman. 1957. Zit. nach FARNER (Literatur).
- , and D. S. FARNER: The bioenergetic basis of light-induced fat deposition in the white-crowned sparrow. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **93**, 354—359 (1956).
- KOBAYASHI, H.: On the induction of molt in birds by 17α -Oxyprogesteron-17-Capronate. *Endocrinology* **63**, 420—434 (1958).
- KRACHT, J.: Morphologische Kriterien zur Beurteilung der Inselaktivität. *Endokrinologie* **36**, 146—158 (1958a).
- Inselveränderungen durch BZ 55 und D 860 im Tierexperiment. *Ther. d. Monats* **8**, 250 bis 256 (1958b).
- Funktionszustände des Inselzellsystems. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.*, 42. Tagg. S. 116—121. Stuttgart: Gustav Fischer 1959.
- KÜHNAU, J.: Physiologisch-chemische Grundlagen der Fettsucht. *Verh. dtsch. Ges. Verdau.-u. Stoffwechselkr.* **18**, 208—212 (1956).
- LIEVRE, F.: Contribution à l'histogénèse du pancréas endocrine chez l'embryon de poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.* **46**, 61—80 (1957a).
- La différenciation des cellules A et B des îlots endocriniens du pancréas chez l'embryon de poulet. *Ann. Endocr. (Paris)* **18**, 592—597 (1957b).
- LOFTS, B., and A. J. MARSHALL: The effects of prolactin administration on the internal rhythm of reproduction in male birds. *J. Endocr.* **13**, 101—106 (1956).
- , and A. J. MARSHALL: The post-nuptial occurrence of progestins in the seminiferous tubules of birds. *J. Endocr.* **19**, 16—21 (1959).
- LUKENS, F. D. W.: The pancreas: insulin and glucagon. *Ann. Rev. Physiol.* **21**, 445—474 (1959).
- MERKEL, F. W.: Untersuchungen über tages- und jahresperiodische Aktivitätsänderungen bei gekäfigten Zugvögeln. *Z. Tierpsychol.* **13**, 278—301 (1956).
- Untersuchungen über tages- und jahresperiodische Änderungen im Energiehaushalt gekäfigter Zugvögel. *Z. vergl. Physiol.* **41**, 154—178 (1958a).
- Zur Physiologie der Zugruhe nächtlich ziehender Kleinvögel. *Vogelwarte* **19**, 214 (1958b).
- METUZALS, J.: Cytologische Studien über die Hypophysis cerebri des normalen und in Dunkelheit gehaltenen Grasfrosches (*Rana temporaria* L.). *Z. Zellforsch.* **35**, 550—578 (1951).
- MIALHE, P.: Transformations acino-insulaires chez le canard après thyroïdectomie. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **144**, 510—512 (1950).
- Glucagon, insuline et régulation endocrine de la glycémie chez le canard. *Acta endocr. (Kbh.) Suppl.* **36** (1958).
- MILLER, R. A.: Effects of anterior pituitary preparations and insulin on the islet cells of the pigeon pancreas. *Endocrinology* **31**, 535—544 (1942).
- MOSCA, L.: *Istofisiologia delle isole pancreatiche*. Milano: Edizione del Premio Ganassini 1959.

- MÜLLER, I., W. RUNGE u. H. FERNER: Cytologie und Gefäßverhältnisse des Inselorgans bei der Ente. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **62**, 165—186 (1956).
- NAGELSCHMIDT, L.: Untersuchungen über die Langerhansschen Inseln der Bauchspeicheldrüse bei den Vögeln. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **45**, 200—232 (1939).
- NULTSCH, W.: Tetrahydrofuran, ein neues Intermedium für die Einbettung mikroskopischer Objekte in Paraffin und Celloidin. *Mikrokosmos* **45**, 112—116 (1956).
- OAKBERG, E. F.: Quantitative studies of pancreas and islands of Langerhans in relation to age, sex and body weight in White Leghorn chickens. *Amer. J. Anat.* **84**, 279—310 (1949).
- ODUM, E. P., and J. C. MAJOR: The effect of diet on photoperiod-induced lipid deposition in the white-throated sparrow. *Condor* **58**, 222—228 (1956).
- PORTIUS, H. J., u. J. RATHS: Über die Aktivität der Anteile des Inselorgans im Winterschlaf, nach dem Erwachen aus dem Winterschlaf und nach Kältenarkose. *Z. Biol.* **109**, 387—400 (1956).
- RAUTENBERG, W.: Vergleichende Untersuchungen über den Energiehaushalt des Bergfinken (*Fringilla montifringilla* L.) und des Haussperlings (*Passer domesticus* L.). *J. Ornithol.* **98**, 36—63 (1957).
- ROMEIS, B.: Hypophyse. In *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bd. VI/3. Berlin: Springer 1940.
- *Mikroskopische Technik*. München: Leibnitz 1948.
- ROWAN, W.: Relation of light to bird migration and developmental changes. *Nature (Lond.)* **115**, 494—495 (1925).
- On photoperiodism, reproductive periodicity and the annual migrations of birds and certain fishes. *Proc. Boston Soc. nat. Hist.* **38**, 147—189 (1926).
- SCHÄTZLE, W.: Die jahreszeitlichen Veränderungen der Teleostierinseln. *Ann. Univ. Saarbrücken* **2**, 19—56 (1954).
- SCHILDMACHER, H.: Der Jahreszyklus des Zugvogels und seine Synchronisierung mit dem Jahreszyklus der Umwelt. *Vogelwarte* **19**, 229—232 (1958).
- SCHILDMACHER, H., u. W. RAUTENBERG: Über die Wirkung kleiner Mengen von Thyroxin auf das Körpergewicht bei Finkenvögeln. *Biol. Zbl.* **71**, 397—405 (1952).
- SCHULZE, W.: Insulin and glucagon. *Ciba Found. Coll. Endocr.* **9**, 147—162 (1956).
- SCOTT, H. R.: Rapid staining of beta cell granules in pancreatic islets. *Stain Technol.* **27**, 267—268 (1952).
- TANABE, Y., K. HIMENEO and H. NOZAKI: Thyroid and ovarian function in relation to molting in the hen. *Endocrinology* **61**, 661—666 (1957).
- WACHS, H.: Die Wanderungen der Vögel. *Ergebn. Biol.* **1**, 479—637 (1926).
- WALLGREN, H.: Energy metabolism of two species of the genus *Emberiza* as correlated with distribution and migration. *Acta zool. fenn.* **84**, 1—100 (1954).
- WATZKA, M.: Zellen mit speziellen Funktionen. In *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. II/1: Das Cytoplasma. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- WEIL-MALHERBE, H.: The mechanism of action of insulin. *Ergebn. Physiol.* **48**, 54—111 (1955).
- WINGSTRAND, K. G.: The structure and development of the avian pituitary. Lund: C. W. K. Gleerup 1951.
- WOLFSON, A.: The role of light and darkness in the regulation of spring migration and reproductive cycles in birds. In: *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals*. Washington, D. C.: American Association for the Advancement of Science 1959.
- ZEDLITZ, O.: Vogelgewichte als Hilfsmittel für die biologische Forschung. *J. Ornithol.* **74**, 296—308 (1926).

Dr. AUGUST EPPLE, Zoologisches Institut der Universität, Frankfurt a. M.

Aus dem Institut für Elektronenmikroskopie an der Medizinischen Akademie, Düsseldorf

DIE CUTICULA DER EPIDERMIS DES REGENWURMS (*LUMBRICUS TERRESTRIS* L.)*

Von

CARLA RUSKA und HELMUT RUSKA

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Dezember 1960)

Bei der Untersuchung von freien Nervenendigungen und Sinneszellen in der Epidermis des Regenwurms ergab sich Gelegenheit, die Struktur der *Cuticula* aufzuklären. Nach F. K. STUDNÍČKA (1929) ist das „Oberhäutchen“ des Regenwurms schon 1849 von F. LEYDIG gesehen worden. Es läßt sich durch 6tägige Mazeration in 30%igem Alkohol ablösen und zeigt dann von der Fläche aus gesehen sich rechtwinklig kreuzende Linien, die auf feine Fibrillen zurückgeführt werden (P. CERFONTAINE 1890; H. A. STOLTE 1933). Die Struktur des Querschnittes der Cuticula wurde nicht eindeutig geklärt. Sie erschien den verschiedenen Beobachtern entweder optisch homogen (N. M. KULAGIN 1891), alveolär (B. SUKATSCHOFF 1899), unter der Oberfläche zunächst homogen und dann zweischichtig fibrillär (V. v. EBNER 1910), oder auch senkrecht zur Oberfläche gestreift, vielleicht von feinen Kanälen durchzogen (CERFONTAINE 1890). Auch die Beantwortung der Frage, ob die Cuticula eine Ausscheidung der Zelle oder umgewandeltes Protoplasma sei, blieb unentschieden. Sie kann bei der Verschiedenartigkeit der Cuticulabildungen sicherlich nicht einheitlich beantwortet werden. Sehen wir davon ab, daß das Wort „Cuticula“ bei G. FALLOPIA (1775) die Epidermis bezeichnet, und daß die Cuticulasubstanzen der Pflanzenzellen nicht nur chemisch, sondern sicher auch strukturell von tierischen Cuticulaschichten verschieden sind, so werden doch auch noch bei STUDNÍČKA (1929) sehr ungleichartige Gebilde, vom „Oberhäutchen“ des Regenwurms und vom Bürstensaum der Darmepithelien bis zum kalkimprägnierten Chitinpanzer der Krebse als tierische Cuticula bezeichnet. L. RHUMBLER (1914) faßte den Cuticulasaum der Darmepithelien als eine feste Grenzflächenmembran mit Porenkanälen auf. In der Histologie und mikroskopischen Anatomie von H. PETERSEN (1935) wird als einziger Cuticulasaum beim Menschen die Bedeckung der Darmepithelien genannt, während W. BARGMANN (1959) in seiner Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen auch die strukturell ungeklärte Epitheloberfläche des Ausführungsgangs der Schweißdrüsen als Cuticula bezeichnet. Erst die Elektronenmikroskopie konnte den vorwiegend der Resorption dienenden Bürstensaum eindeutig von Cuticulaschichten mit mechanischer Funktion abtrennen (B. GRANGER und R. F. BAKER 1949 und zahlreiche spätere Beobachter). Die hochspezialisierte Struktur, die wir an der Cuticula des Regenwurms fanden, gilt daher nur für einen sehr engen Bereich dessen, was als Cuticula bezeichnet wurde oder noch bezeichnet wird.

* Mit dankenswerter Unterstützung durch das Kultusministerium des Landes Nordrhein-Westfalen durchgeführte Untersuchung.

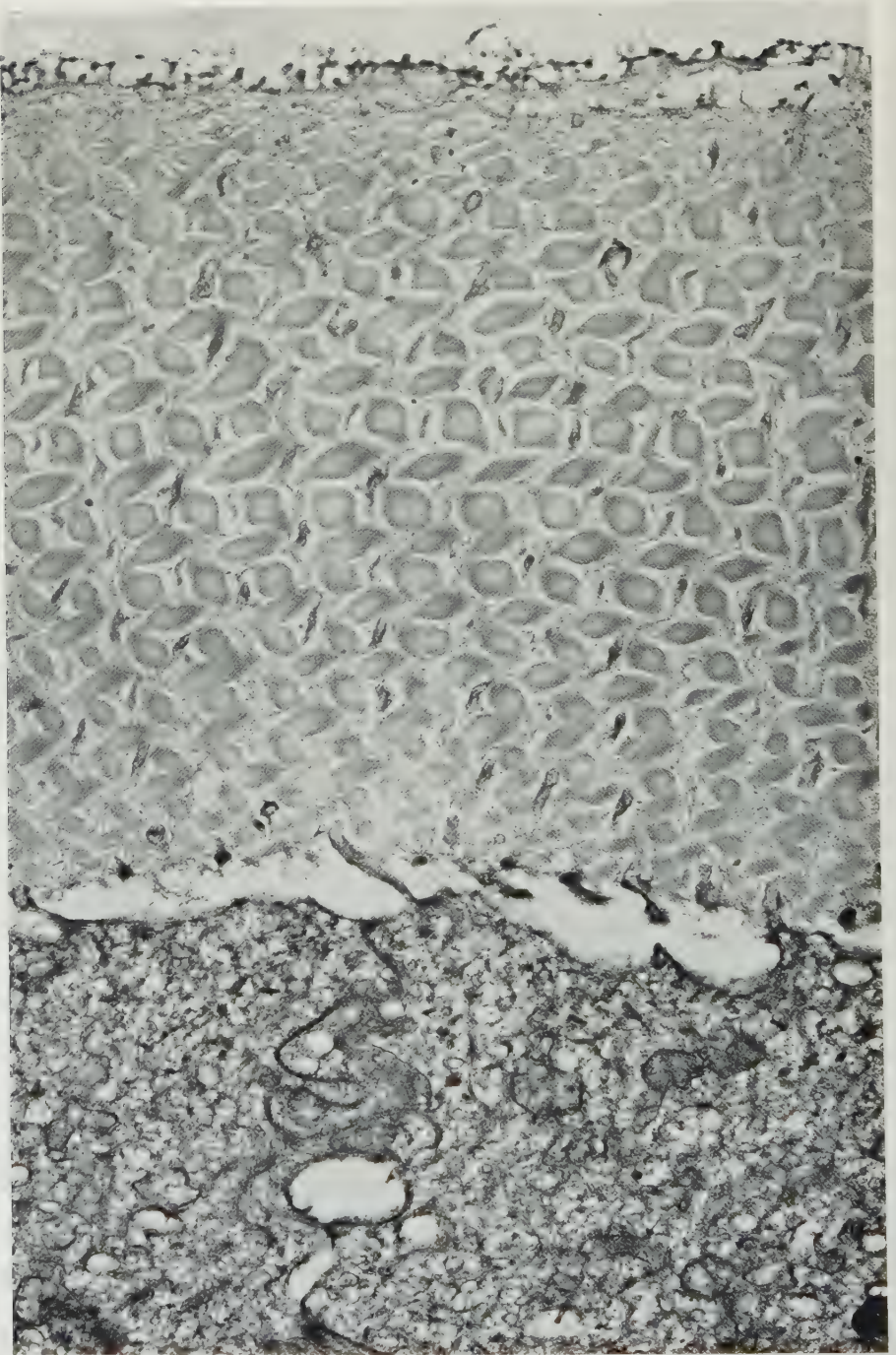


Abb. 1. Cuticula und distale Anteile von zwei Epithelzellen des Regenwurms, in einem spitzen Winkel zur Epitheloberfläche geschnitten. Gewundene Zellgrenzen in der Mitte des unteren Bildteils. An 3 Stellen liegen zwischen Epithel und Cuticula die Cuticulakanälchen in der Schnittebene.
Epicuticula am oberen Bildrand. Vergr. 20000:1

Die Abb. 1 und 2 zeigen Schnitte, die in verschiedenen Richtungen durch OsO_4 fixierte, in Vestopal eingebettete Epidermis des Regenwurms geführt

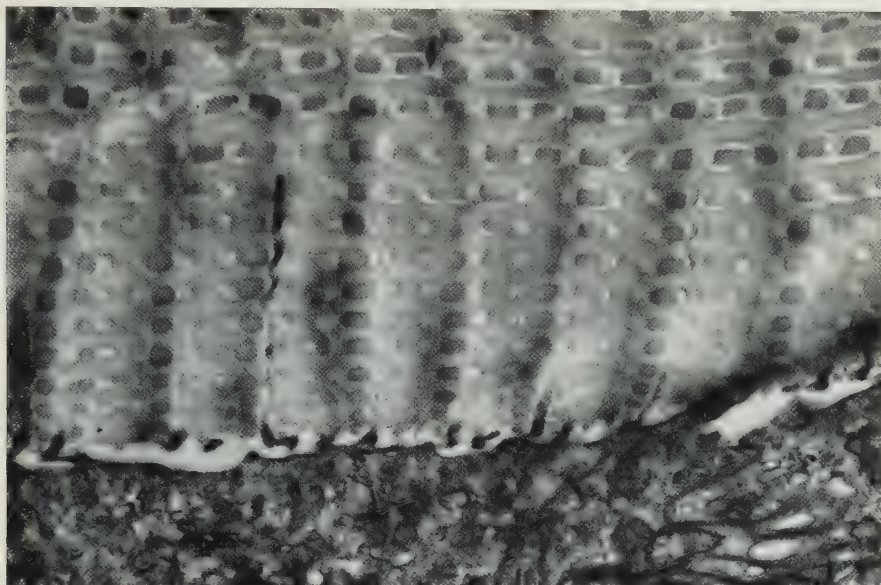


Abb. 2. Wie Abb. 1, Schnittrichtung jedoch sowohl genau senkrecht zur Epitheloberfläche als auch genau in einer der beiden sich kreuzenden Fibrillenrichtungen. Vergr. 20 000:1

wurden (Genauerer über die Methoden bei C. RUSKA 1960.) Die Schnittrichtung verläuft in Abb. 1 unter einem Winkel von annähernd 40° zur Oberfläche des Epithels. Es ist ein Geflecht von 100 bis knapp $200 \text{ m}\mu$ dicken Fibrillen sichtbar, deren räumliche Anordnung zunächst nicht sicher zu deuten ist. Wie die Kettenfäden eines Gewebes verlaufen senkrecht zu den Cuticula-fibrillen — dem Schuß oder Einschlag — in einem Abstand von etwa $350\text{--}400 \text{ m}\mu$ schlauchförmige, $60\text{--}70 \text{ m}\mu$ dicke Zellfortsätze. Sie sind kontrastreicher als die Fibrillen, entspringen von der Plasmamembran der Epithel-

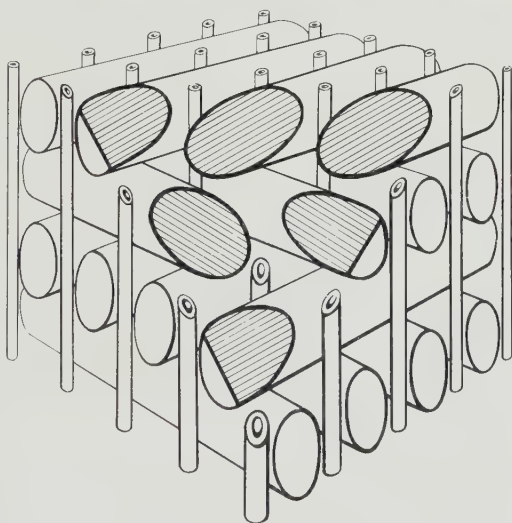


Abb. 3. Schema der Cuticula-Konstruktion

zellen und reichen bis dicht unter die Oberfläche der Cuticula. Zwischen den Cytoplasmafortsätzen, die wir als Cuticulakanälchen bezeichnen wollen, und den extrazellulär liegenden Cuticula-fibrillen kann man eine feingranuläre Substanz erkennen. Unmittelbar an der Oberfläche verdichtet sich diese Zwischensubstanz zu einer Epicuticula, deren Abschluß nach außen im Schnitt wie eine

geknüpfte Teppichkante erscheint oder auch an das Aussehen von Asci und Basidien höherer Pilze erinnert.

In Abb. 2 ist die Cuticula so getroffen, daß sowohl Fibrillen als auch Kanälchen ein Stück weit in der Schnittebene liegen. Die Kanäle verlaufen im Abstand von knapp $300\text{ m}\mu$ senkrecht von der Zelloberfläche ausgehend, leicht geschlängelt zur Epicuticula. Sie werden von 20—30 Lagen von Fibrillen gekreuzt, die parallel mit der Zelloberfläche laufen, deren Richtung aber von Lage zu Lage um 90° wechselt. In Flachschnitten haben wir quadratische bis rhombische Anordnung der Cuticulakanäle mit den dazwischen sich kreuzenden Cuticulafibrillen gesehen. Die Fibrillendicke nimmt vom Epithel aus gesehen zunächst zu, dann wieder ab.

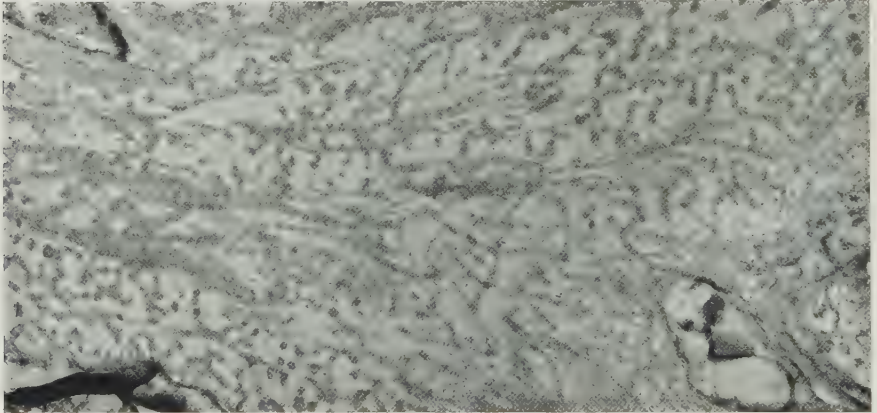


Abb. 4. Kollagene Fibrillen des Regenwurms mit typischer Längsperiode zum Vergleich mit den glatten Cuticulafibrillen. Vergr. 30 000:1

Schematisch ergibt sich eine Konstruktion, die in Abb. 3 dargestellt ist. Die früheren Beobachter haben die sich kreuzende Streifung in der Fläche, fibrillären Aufbau und senkrecht zur Oberfläche ziehende Strukturen richtig erkannt.

Die Cuticula enthält durch die von der Plasmamembran der Epithelzellen ausgehenden Kanälchen cytoplasmatische Anteile sowie in Form der Fibrillen und der granulären Zwischensubstanz von den Zellen ausgeschiedene Anteile. Ob sich an der Bildung der Cuticulafibrillen, d.h. wahrscheinlich an der Bildung eines „Präcuticulins“ nur die Zellen beteiligen, die auch die Cytoplasmafortsätze bilden, ob hierbei noch die Schleimzellen und Eiweißzellen eine Rolle spielen oder ob diese ein Gleitmittel für die Fibrillen liefern, möchten wir offenlassen. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß der granuläre bis feinfibrilläre Inhalt der einzelligen Eiweißdrüsen des Epithels sehr der Zwischensubstanz ähnelt. Wie die Basalmembran ist die Cuticula oder genauer gesagt ihr fibrillärer Anteil nicht territorial, den Zellen entsprechend, begrenzt. Die Cuticulafibrillen sind wesentlich dicker als die nur $12\text{--}18\text{ m}\mu$ messenden kollagenen Fibrillen des Regenwurms und ohne deren $56\text{ m}\mu$ Periode (Abb. 3).

Nach STOLTE (1933) verläuft die Richtung der sich kreuzenden Linien in der Fläche der abgelösten Cuticula jeweils 45° zur Körperachse. Wenn der Wurm sich streckt, muß der Winkel zur Körperachse kleiner werden, bei der Kontraktion muß er sich vergrößern. Zugleich verschiebt sich die Stellung der Kanälchen auf

der Epitheloberfläche von einer quadratischen zu einer längs-respektive querrhombischen Anordnung. Die Cuticula ist also eine Art Scherengewebe, das sich vorzüglich der Veränderung der Körperform anpassen kann. Die Drehpunkte sind jedoch nicht in den Fibrillen festgelegt wie bei einer Nürnberger Schere oder einem geknüpften Netz, sondern sie kreuzen die Fibrillenlagen zwischen den Fibrillen in Form der Cuticulakanälchen. Diese sind einerseits auf der Zelloberfläche, andererseits in der Epicuticula verankert. Dadurch werden Änderungen der Fibrillenrichtung und Gleiten der Fibrillen ermöglicht. Die Fibrillen müssen außerdem eine gewisse Elastizität besitzen, um sich der Formänderung des Wurms ständig anpassen zu können. Die höckerige freie Oberfläche der Epicuticula dürfte der besseren Haftung einer dünnen Schleimschicht dienlich sein.

Zusammenfassung

Die um $3-4\mu$ dicke Cuticula des Regenwurms (*Lumbricus terrestris* L.) besteht aus 20—30 sich annähernd rechtwinklig kreuzenden Lagen von Cuticulafibrillen. Senkrecht zu und zwischen den sich kreuzenden Fibrillen verlaufen röhrenförmige Zellfortsätze, Cuticulakanälchen von der Oberfläche der Epithelzelle zur Epicuticula. Die Epicuticula bildet eine kontinuierliche, mit feinen, dicht stehenden Exkreszenzen besetzte Schicht. Die zelluläre, respektive extrazelluläre Natur der Cuticulastrukturen und ihr funktionelles Verhalten werden besprochen.

Anmerkung bei der Korrektur. Die Herren D. PETERS (Hamburg) und W. J. SCHMIDT (Gießen) machten uns auf die Untersuchung der Cuticulastruktur des Regenwurms durch REED und RUDALL (1948) aufmerksam.

Die von den englischen Autoren gewonnenen *Abdruckpräparate* aus verschiedenen tiefen Schichten der Cuticula stimmen mit den hier gezeigten *Schnittpräparaten* vorzüglich überein und ergänzen sie durch die Aufsicht auf die freie Oberfläche. Mit der Abdrucktechnik sind jedoch die Cuticula-Kanälchen zwischen den Fibrillen nicht erkannt worden. Einige der Vermutungen über die Bildung der Cuticulafibrillen (s. auch RUDALL 1950) dürften deshalb häufig geworden sein. Über die chemische Zusammensetzung der Cuticula und ihre chemischen Unterschiede gegenüber Kollagen s. WATSON und SMITH (1956).

Literatur

- BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 3. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- CERFONTAINE, P.: Recherches sur le système cutané et sur le système musculaire du Lombric terrestre. Arch. Biol. (Liège) **10**, 327—428 (1890).
- EBNER, V. v.: Über Fasern und Waben. S.-B. Akad. Wiss. Wien. math.-nat.Kl. **119**, 285—326 (1910).
- FALLOPIA, G.: Lectiones Gabrielis Fallopii de partibus similaribus humani corporis. Norimbergae 1775.
- GRANGER, B., and R. F. BAKER: Electron microscope investigation of the striated border of the intestinal epithelium. Anat. Rec. **103**, 459 (1949).
- KULAGIN, N. M.: Zur Anatomie des Lumbricus terrestris (Russ. Naturf. Vers.) Biol. Zbl. **10**, 423 (1891).
- LEYDIG, F.: Zur Anatomie von Pisciola geometrica. Z. Zool. **1**, 103—134 (1849).
- PETERSEN, H.: Histologie und mikroskopische Anatomie. München: J. F. Bergmann 1935.
- REED, R., and K. M. RUDALL: Electron microscope studies on the structure of earthworm cuticles. Biochem. et Biophys. Acta **2**, 7—18 (1948).
- RHUMBLER, L.: Das Protoplasma als physikalisches System. Ergebn. Physiol. **14**, 474—617 (1914).
- RUDALL, K. M.: Fundamental structures in biological systems. Progress in Biophysics **1** 39—72 (1950).

- RUSKA, C.: Die Zellstrukturen des Dünndarmepithels in ihrer Abhängigkeit von der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Darminhalts. I. Z. Zellforsch. **52**, 748—777 (1960).
- STOLTE, H.-A.: In H. G. BRONNS Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd. 4, Vermes, Abt. 3, Annelides, Buch 3, Oligochaeta, 1. u. 2. Lief.: Akademische Verlagsgesellschaft 1933 u. 1935.
- STUDNIČKA, F. K.: Die Organisation der lebendigen Masse. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, herausgeg. von W. v. MÖLLENDORFF, Bd. I/1, S. 421—568. Berlin: Springer 1929.
- SUKATSCHOFF, B.: Über den feineren Bau einiger Cuticulae und der Spongienfasern. Z. wiss. Zool. **66**, 377—406 (1899).
- WATSON, M. R., and R. H. SMITH: The chemical composition of earthworm cuticle. The Biochem. Journ. **64**, 108 (1956).

Prof. Dr. HELMUT RUSKA,
Institut für Elektronenmikroskopie an der Medizinischen Akademie Düsseldorf,
Moorenstraße 5

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. W. BARGMANN)

ZUR HISTOLOGIE UND ZYTOLOGIE
DER GLANDULA PARATHYREOIDEA DES MENSCHEN
LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN*
AN EPITHELKÖRPERADENOMEN

Von

RAINER LANGE

Mit 38 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Dezember 1960)

Inhaltsübersicht

	Seite
I. Einleitung und Fragestellung	765
II. Material und Methodik.	766
III. Befunde	768
1. Epithelkörperadenom EKA 1	768
a) Lichtmikroskopische Befunde S. 768. — b) Elektronenmikroskopische Befunde S. 772	
2. Epithelkörperadenom EKA 2	792
a) Lichtmikroskopische Befunde S. 792. — b) Elektronenmikroskopische Befunde S. 794	
3. Epithelkörperadenom EKA 3	800
a) Lichtmikroskopische Befunde S. 800. — b) Elektronenmikroskopische Befunde S. 801	
4. Epithelkörperadenom EKA 4.	806
a) Lichtmikroskopische Befunde S. 806. — b) Elektronenmikroskopische Befunde S. 807	
IV. Diskussion der Befunde	811
1. Übersicht über die beobachteten Zelltypen	811
2. Über die Beziehung zwischen der sekretorischen Leistung der Epithelkörperzellen und ihrer Struktur	812
a) Parathormonsynthese S. 812. — b) Kolloidsynthese S. 813	
3. Die einzelnen Zelltypen	814
a) Gruppe 1: Dunkle oxyphile Zellen (EKA) S. 814. — b) Gruppe 2: S. 815. — c) Gruppe 3: Dunkle Hauptzellen (EKA) S. 816. — d) Gruppe 4: Kleine wasserhelle Zellen (EKA) S. 818. — e) Gruppe 5: Große wasserhelle Zellen (EKA) S. 820. — f) Gruppe 6: S. 821. — g) Gruppe 7: Adenomzellen (EKA 4) S. 821	
4. Der perikapilläre Raum	821
5. Zusammenfassende Betrachtung der beobachteten Adenomzellen und Bemerkungen zur Klassifikation der Epithelkörperzellen	822
Zusammenfassung	824
Literatur	825

I. Einleitung und Fragestellung

Unser Wissen vom Feinbau der Epithelkörperchen des Menschen ist spärlich (Lit. bei BARGMANN 1939, TONUTTI 1956). Es mangelt vor allem an zytologischen Untersuchungen in den Arbeiten, die sich — gestützt auf ein größeres Material — mit der Klassifikation und Genealogie der Zelltypen in den menschlichen Epithelkörperchen befassen (vgl. WERNLY u. BERDJIS-CHAMSI 1946; EGER u. v. LESSEN

* Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

1954). Insbesondere liegen elektronenmikroskopische Beobachtungen bisher, soweit wir sehen, nur von den Epithelkörperchen der Ratte (LEVER 1957, 1958; Hauptzellen) und des Affen (TRIER 1958; helle Hauptzellen, dunkle oxyphile Zellen), sowie in einer kurzen Mitteilung über menschliche Epithelkörperadenome (ENGFELDT et al. 1959) vor. Eine kombinierte licht- und elektronenmikroskopische Studie an *menschlichen Epithelkörperadenomen* dürfte unsere zytologischen Kenntnisse über die Glandula parathyreoidea insofern bereichern können, als gerade die Epithelkörperchen des Menschen eine hohe Differenzierung der Zelltypen zeigen und in den Epithelkörperadenomen alle Zelltypen normaler Epithelkörperchen vorkommen (WOOLNER, KEATING u. BLACK 1952; s. auch FASSBENDER 1956). Immerhin muß die Tatsache, daß dieser Untersuchung das Studium von Adenomen zugrunde liegt und aus begreiflichen Gründen nicht das normaler menschlicher Epithelkörperchen, bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden. In diesem Zusammenhang sei auf die Angaben von EGER u. v. LESSEN (1954) hingewiesen, nach denen die Zelltypen der Epithelkörperadenome nicht in die Klassifikation der normalen Epithelkörperchenzellen einzureihen sind. Dagegen bedienen sich BLACK u. ACKERMANN (1950), WOOLNER, KEATING u. BLACK (1952) und FASSBENDER (1956) für die Kennzeichnung der Adenomzellen der gleichen Nomenklatur, wie sie für die Zellen normaler Epithelkörperchen üblich ist. In der vorliegenden Studie werden wir die Zelltypen der untersuchten Adenome auf Grund ihres lichtmikroskopischen Strukturbildes zu den Zelltypen normaler Beischilddrüsen in Beziehung setzen und sie, soweit möglich, in Anlehnung an deren Klassifikation benennen.

Im einzelnen soll diese Untersuchung zur Klärung folgender Fragen beitragen:

1. Lassen sich die lichtmikroskopisch sehr unterschiedlich strukturierten Zelltypen histochemisch und elektronenmikroskopisch charakterisieren?
2. Können die bisherigen Anschauungen über die funktionelle Wertigkeit der Zelltypen in den Epithelkörperchen durch elektronenmikroskopische und histochemische Befunde gestützt werden?
3. Wie sind die Feinstruktur und der Chemismus des Epithelkörperchenkolloids, soweit er überhaupt mit histochemischen Verfahren erschlossen werden kann, in den Adenomen menschlicher Epithelkörperchen beschaffen?
4. Entspricht der Feinbau des perivaskulären Raumes in den Epithelkörperadenomen des Menschen jenem der entsprechenden Bildungen in tierischen Epithelkörperchen?

II. Material und Methodik

1. Material

Zur licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung gelangten Teile folgender 4 Epithelkörperadenome (EKA), die in der Chirurgischen Universitätsklinik Kiel (Direktor: Prof. Dr. R. WANKE¹) operativ gewonnen wurden:

EKA 1: Patientin I. M. (KrbI.-Nr. 3480/1959 Chir. Univ.-Klinik Kiel). 38 Jahre, 2 Geburten. Vor 3 Jahren linksseitiger Ureterstein und erhöhte Ca- und erniedrigte P-Werte

¹ Herrn Prof. Dr. R. WANKE danke ich für die Überlassung des Materials sowie für die Erlaubnis zur Veröffentlichung von Auszügen aus den Krankenblättern, Herrn Dr. D. BORM, Chir. Univ.-Klin. Kiel, für manchen Rat. — Herr Prof. Dr. W. DOERR, Direktor des Pathologischen Instituts der Univ. Kiel, stellte freundlicherweise die pathologisch-anatomischen Diagnosen zur Verfügung.

im Serum. Jetzt rechtsseitiger Nierenstein. Vor der Operation Ca: 10,9—13,1 mg-%; P: 2,2—2,8 mg-% im Serum. Klinische Diagnose: Renale Form eines primären Hyperparathyreoidismus. Exstirpation eines EKA (inf., dextr.; Gewicht: 0,8 g) am 13. 2. 60. Postoperative Normalisierung der Ca- und P-Werte im Serum. Pathologisch-anatomische Diagnose (E.-Nr. 1174/1960, Pathol. Institut der Univ. Kiel): Sog. Hauptzellenadenom.

EKA 2: Patientin K. P. (KrbI.-Nr. 626/1960, Chir. Univ.-Klin. Kiel). 57 Jahre, 1 Geburt, 6 Fehlgeburten, Menopause. Seit 8 Jahren rezidivierende Nephrolithiasis, deswegen Nephrektomie links. Seit 4 Jahren Verdacht auf primären Hyperparathyreoidismus. Vor der Operation Ca: 11,5—12,3 mg-%; P: 2,5—3,4 mg-% im Serum. Klinische Diagnose: Renale Form eines primären Hyperparathyreoidismus. Exstirpation eines EKA (sup., sin.; Gewicht: 2 g) am 25. 5. 60. Postoperative Normalisierung der Ca- und P-Werte im Serum. Pathologisch-anatomische Diagnose (E.-Nr. 3858/1960, Pathol. Institut der Univ. Kiel): Trabekuläres Hauptzellenadenom.

EKA 3: Patient K. B. (KrbI.-Nr. 975/1960 Chir. Univ.-Klinik Kiel). 53 Jahre. Vor 4 Wochen rechtsseitige Nierenkoliken, jetzt Nierensteinnest im rechten unteren Nierenkelch. Vor der Operation Ca: 11,1—12,1 mg-%; P: 2,1—2,8 mg-% im Serum. Klinische Diagnose: Renale Form eines primären Hyperparathyreoidismus. Exstirpation eines EKA (inf., sin.; Gewicht: 1 g) am 6. 7. 60. Postoperative Normalisierung der Ca- und P-Werte im Serum. Pathologisch-anatomische Diagnose (E.-Nr. 4904/1960 Pathol. Institut der Univ. Kiel): Hauptzellenadenom.

EKA 4: Patientin K. S. (KrbI.-Nr. 847/1960 Chir. Univ.-Klinik Kiel). 56 Jahre, 3 Geburten, 2 Fehlgeburten, seit 10 Jahren Menopause. Seit 3 Jahren Zeichen eines primären Hyperparathyreoidismus mit doppelseitigen Nierensteinen. Seit 7 Monaten zunehmende Beschwerden durch Osteodystrophia fibrosa generalisata; bettlägerig. Vor der Operation Ca: um 15 mg-%; P: um 2,5 mg-% im Serum. Klinische Diagnose: Renal-ossäre Form eines primären Hyperparathyreoidismus. Exstirpation eines EKA (sup., dext.; Gewicht: 7 g) am 22. 6. 60. Postoperative Normalisierung der Ca- und P-Werte im Serum. Pathologisch-anatomische Diagnose (E.-Nr. 4546/1960, Pathol. Institut der Univ. Kiel): Hauptzellenadenom eines Epithelkörperchens mit regressiven Veränderungen.

Bei allen Patienten ließen sich bei Nachuntersuchung am 31. 10. 60 keine Zeichen eines Rezidivs des primären Hyperparathyreoidismus erkennen (singuläre Epithelkörperadenome).

2. Methodik

Die Gewebstückchen wurden lebensfrisch bei Zimmertemperatur fixiert.

a) **Lichtmikroskopische Verfahren.** Übliche Fixierungen (s. ROMEIS 1948): Bouinsche und Carnoy'sche Flüssigkeit, Formalin (1:4); bisweilen Gemische nach CIACCIO, ZENKER, M. HEIDENHAIN (Susa) und nach ROSSMANN (1940). Außer bei EKA 1 wurde der Gefrier-austausch mit Rossmannscher Flüssigkeit nach PEYROT (1956) durchgeführt. An Stelle dieser Flüssigkeit verwendeten wir auch Methanol und Azeton.

Nach Formolfixierung Anfertigung von Gefrierschnitten (10 μ), im übrigen Paraffin-einbettung über Methylbenzoat (s. ROMEIS). Dicke der Serienschnitte 5 μ , bisweilen 2—3 μ .

Färbungen und Reaktionen (s. ROMEIS): Hämalaun-Eosin; Azan und Eisenhämatoxylin nach M. HEIDENHAIN; Übersichtsfärbungen nach DOMAGK und nach GOLDNER. Sudan Schwarz B nach LISON, kolloidale Sudanlösung nach ROMEIS. Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) mit Reduktionsbad; Kontrolle: Diastasebehandlung nach GRAUMANN u. CLAUS (1958/59), Azetylierung nach LILLIE (s. PEARSE 1960), Benzoylierung (PEARSE), Carmin nach BEST. Ninhydrin-Schiff-Reaktion nach BURSTONE (1955); Kontrolle: Schiff-Reagens allein, Benzoylierung und Desaminierung mit salpetriger Säure (PEARSE). Diazetylbenzol-Reaktion¹ nach WARTENBERG (1956/57); Kontrolle: Benzoylierung wie oben. Methylenblau bei pH 4,2 [Darstellung von Ergastoplasma: basophiler oder juxtanukleärer Körper im Sinne von BAKER (1942) und TRIER (1958)] sowie bei anderen pH-Werten nach PISCHINGER (s. ROMEIS); Kontrolle: Perchlorsäureextraktion bei tiefer Temperatur (RNS) nach ERICKSON et al. (s. PEARSE), Gallozyanin-Chromalaun nach EINARSON (s. ROMEIS).

¹ Herr Priv.-Dozent Dr. H. MASKE, Farbwerke Hoechst, überließ uns dankenswerterweise die erforderliche Menge o-Diazetylbenzol.

Kernmessungen. wenn nicht anders angegeben, an Carnoy-Schnitten mit einem Okularmikrometer: Messung des großen und kleinen Durchmessers von 30 Kernen eines Zelltyps; Berechnung der Schnittfläche als Ellipse mit den halben Durchmessern als Achsen; Berechnung des arithmetischen Mittels ($\bar{x}$) und der mittleren quadratischen Abweichung (s). Wenn durch größere Intervalle in der Verteilungstafel eine deutliche Unterteilung in einzelne Größengruppen entstand, wurden die entsprechenden Werte der Hauptgruppe oder mehrere Gruppen angegeben ($\bar{x}_1, s_1$). Die Einheit der Flächenangaben ist $\frac{\pi}{4} \mu^2$.

b) Elektronenmikroskopie. EKA 1: Fixierung in 2%igem Osmiumtetroxyd, isotonisch ($\Delta i = -0,56^\circ$), gepuffert bei $pH 7,2$. Dauer: 3 Std. EKA 2: Fixierung in 1%igem Osmiumtetroxyd. Dauer: 3,5 Std; sonst wie EKA 1. EKA 3: Fixierung in Kaliumbichromat-KOH-Osmiumtetroxyd mit Nachkontrastierung nach WOHLFARTH-BOTTERMANN. Dauer: 4 Std. EKA 4: Fixierungsdauer 3 Std, sonst wie EKA 3.

Wässerung in Aqua dest. (EKA 1, 2) oder in gepufferter ($pH 7,2$), isotonischer NaCl-Lösung: 20—40 min; Alkoholstufen (70, 90 und 100%) je $\frac{1}{2}$ —1 Std; Alkohol-Ester aa. $\frac{1}{2}$ Std; 3mal je 1 Std reines Estergemisch; Einbettung in ein Gemisch (1:9 und 1:10) von Methyl- und Butylmethacrylat mit Perkadox (2 oder 3%) als Katalysator bei $48^\circ C$.

Dünnschnitte wurden mit dem Porter-Blum-Mikrotom hergestellt, Aufnahmen mit dem Siemens-Elmiskop 1 (Strahlspannung: 80 kV)¹.

III. Befunde

1. Epithelkörperchenadenom EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom)

a) Lichtmikroskopische Befunde. Die von uns untersuchten Teile dieses Adenoms besitzen einen relativ kompakten Aufbau (Abb. 1), da bindegewebige Septen und größere Follikel fast vollständig fehlen. Zahlreiche Kapillaren und größere Gefäße durchsetzen jedoch das Gewebe. Außerdem findet man viele kleine Pseudofollikel mit kolloidartigen Einschlüssen. Im Epithel herrschen kleinere dunkle Zellen vor. Zwischen ihnen liegen einzelne helle Zellen und große oxyphile Zellen. Große helle Zellen bilden inmitten des Adenoms bisweilen Komplexe, die den Mikroadenomen von WERNLY u. BERDJIS-CHAMSI (1946) entsprechen.

Die *kleinen dunklen Zellen*, deren Durchmesser um 9μ schwankt, sind außerordentlich einförmige Elemente. Ihr zentral liegender Kern besitzt ein kräftiges Chromatingerüst, ist aber ausgesprochen transparent; die Kernmembran ist glatt. Nukleolen — meistens in Einzahl und in peripherer Lage — sind häufig. Kernmembran und Nukleolen färben sich bei der Ninhydrin-Schiff- und besonders bei der Diacetylbenzol-Reaktion (Abb. 2) relativ stark an.

Die Kernschnittflächenberechnung ergibt: $\bar{x} = 35$, $s = \pm 7,1$; für 27 von 30 Kernen ist $\bar{x}_1 = 34$, $s_1 = \pm 2,4$.

Das Strukturbild des Zytoplasmas der kleinen dunklen Zellen ist je nach Art der Fixierung unterschiedlich. Im Zenker-Präparat erscheinen die Zellen mit groben, azidophilen Granula gefüllt (Abb. 1), im Carnoy-Präparat zeigen sie eine etwa netzige Zytoplasmastruktur. Im Formol-Gefrierschnitt erkennt man im Zytoplasma viele feinste, sich überlagernde Bläschen mit einer sudanophilen Membran: im Ciaccio-Paraffinschnitt treten sudanophile Granula als gröbere Gebilde hervor. Die Zellgrenzen treten nicht scharf hervor.

Außer den erwähnten Körnchen enthalten die Zellen wechselnde Mengen von Glykogengranula, die im Zytoplasma verteilt, bisweilen auch zu Schollen

¹ Frau Dr. rer. nat. A. KNOOP danke ich für die Gewinnung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

verklumpt sind. Mit der PAS-Reaktion (Abb. 3) werden sie ungleich kräftiger dargestellt als mit der Bestschen Carminfärbung. Nach Azetylierung und Benzoylierung reagieren die Glykogengranula im Gegensatz zum Bindegewebe und zu den Pseudofollikel einschüssen (s. S. 772) weiterhin PAS-positiv.

Spärlich ausgebildetes basophiles Material liegt in Form etwa 1μ großer Schollen regelmäßig in der Peripherie der Zellen. Bei Elementen, die einen Pseudofollikel begrenzen, befindet es sich meistens an der lumenwärtigen Zelloberfläche, doch ist es nicht in allen Zellen zu finden. Mit Sudanfärbung nach

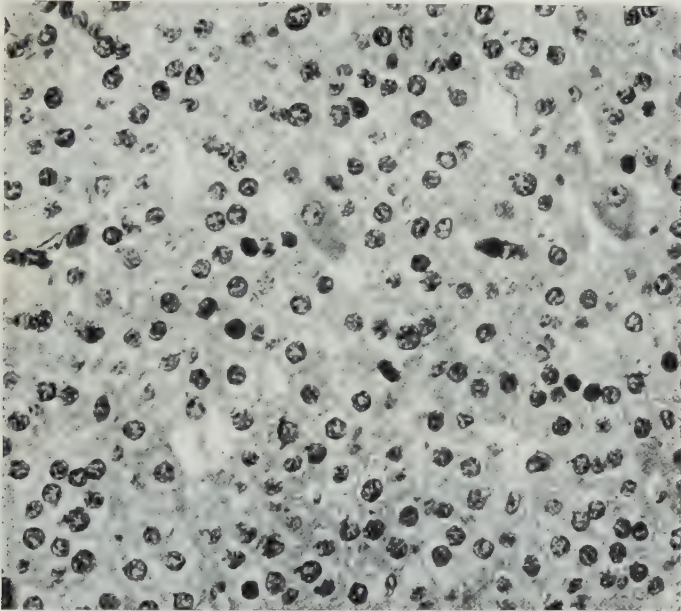


Abb. 1. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zellen und Übergangsformen. In der oberen Bildhälfte 2 oxyphile Zellen. Zenker, Azan, Vergr. 480fach

Formol- oder Ciaccio-Fixierung läßt sich in fast jeder kleinen dunklen Zelle ein kugelförmiger, dem Kern sehr eng anliegender Einschuß sichtbar machen. Es handelt sich dabei um bis zu 4μ große, optisch leer erscheinende Vakuolen mit stark sudanophiler Schale. Bisweilen sind die Einschlüsse komplizierter gebaut, indem sie sich aus mehreren kleineren Vakuolen zusammensetzen.

Die *oxyphilen Zellen* (vgl. Abb. 1—3) zeichnen sich durch große Formvariabilität aus. Liegen sie mit anderen Zellen im dichten Verband, erscheinen sie gedrungen, im ganzen ovoid oder polygonal geformt. Ihr großer Durchmesser kann dann 19μ betragen. Manchmal begrenzen sie unregelmäßig konturierte interzelluläre Räume; sie sind in diesem Falle langgestreckt und erreichen im Durchmesser bis zu 25μ . Ihre Kerne weichen stärker von der Kugelform ab als die der kleinen dunklen Zellen. Sie besitzen ein sehr feines Chromatingerüst, das zarter ist als das der kleinen dunklen Zellen. Auffällig ist ein großer, regelmäßig vorhandener Nukleolus. Die Kernmembran ist in der Regel glatt; nur selten findet sich eine leichte Fältelung.

Die Kernschnittflächenberechnung ergibt: $\bar{x}=44$, $s=\pm 8,1$; für 25 von 30 Kernen ist $\bar{x}_1=41$, $s_1=\pm 3,5$.

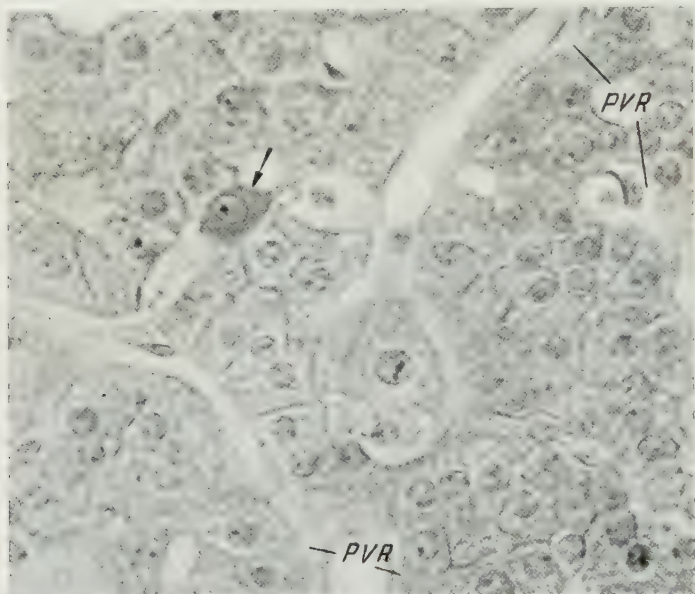


Abb. 2. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Große Mikroadenomzellen (links) mit einer oxyphilen Zelle ($\rightarrow$), kleine dunkle Zellen (rechts). *PVR* perivaskulärer Raum. Carnoy, Diacetylbenzol, Vergr. 640fach

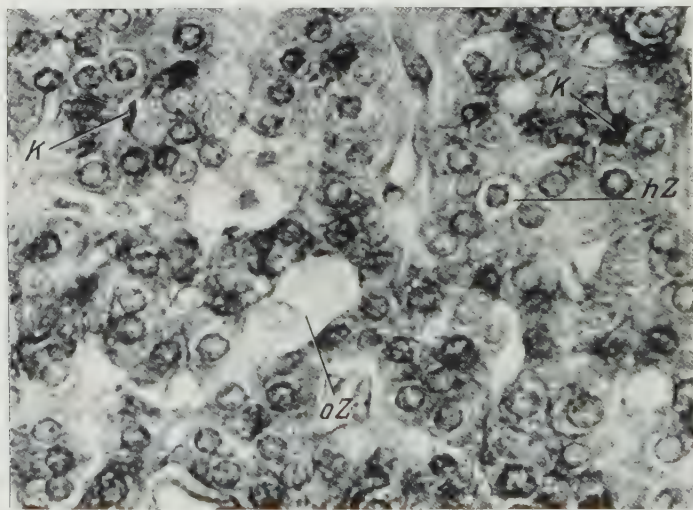


Abb. 3. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Glykogendarstellung. Kleine dunkle Zellen, vakuolisierte helle Zelle (*hZ*) und oxyphile Zelle (*oZ*). *K* Kolloid. Carnoy, PAS-Hämalaun, Vergr. 640fach

Das Zytoplasma der oxyphilen Elemente erscheint nach allen Fixierungen dichter und stärker färbbar als das der kleinen dunklen Zellen. Im einzelnen lassen sich die oxyphilen Zellen auf folgende Weise hervorheben: Sie reagieren stark positiv mit Diazetylbenzol (Abb. 2), mit der Ninhydrin-Schiff-Methode,

mit Sudan sowie mit den Zytoplasmafarbstoffen der üblichen Mehrfachfärbungen (Abb. 1). Vollständig negativ verhalten sie sich bei der PAS-Reaktion (Abb. 3) und gegenüber Methylenblau bei saurem p_H (etwa p_H 4,2). Hinsichtlich der im Sudanpräparat hervortretenden, kugelförmigen Einschlüsse gibt es bei den oxyphilen Zellen größere Variationen als bei den kleinen dunklen Zellen. Oft findet man nicht nur einen perinukleären Einschluß, sondern mehrere kleinere, die im Zelleib unregelmäßig verteilt sind.

Die *kleinen hellen Zellen* (Abb. 3) stimmen hinsichtlich Form und Größe mit den kleinen dunklen Zellen überein. Ihre Kerne erscheinen relativ häufig pyknotisch; die Kerngröße liegt im unteren Teil des Variationsbereiches der Kerngröße der dunklen Zellen. Nach dem Fixationsbild des Zytoplasmas zu urteilen, gibt es Übergangsformen zwischen beiden Zelltypen. Die Vakuolisierung beginnt nämlich mit dem Auftreten eines schmalen perinukleären spaltförmigen Raumes. Bei den typischen hellen Zellen nimmt die Vakuolisierung fast den ganzen Zelleib ein; der Kern scheint dann nur noch durch einige schmale Zytoplasmafäden mit der Zelloberfläche verbunden zu sein. Die Vakuolen sind auch nach der PAS-Reaktion als große leere Räume sichtbar (Carnoy-Fixierung) (Abb. 3). Nach Fixierung in Zenkerscher oder Ciaccioscher Flüssigkeit treten diese hellen Zellen weniger prägnant hervor.

Die *großen Zellen der Mikroadenome* (Abb. 2) fanden wir nur in den nach CARNOY fixierten Stückchen; ihr Durchmesser beträgt ungefähr 16μ . Ihre Kerne besitzen ein lockeres Chromatingerüst und bisweilen mehrere Nukleolen, die Kernmembran ist glatt.

Kernschnittflächenberechnungen ergaben: $\bar{x}=38$, $s=\pm 7,7$; für 23 von 30 Kernen war $\bar{x}_1=34$, $s_1=\pm 2,8$; für 7 von 30 Kernen war $\bar{x}_2=51$, $s_2=\pm 3$.

Das Zytoplasma dieser großen Zellen zeigt nach Carnoy-Fixierung eine gleichmäßige, fein- oder grobvakuoläre Struktur. Der Glykogengehalt ist sehr beträchtlich. Kleine vereinzelte Schollen, die sich im Azanpräparat rötlich-orange färben, erweisen sich im Methylenblaupräparat als basophile Gebilde. Sie liegen zum Teil in Kernnähe, meistens aber wie in den kleinen dunklen Zellen an der Zellperipherie.

Der dichte Verband der Epithelzellen wird häufig durch kleine *Pseudofollikel* unterbrochen, die längliche Einschlüsse von kolloidartiger Natur eng umschließen. Wir zählten auf einem etwa 2 mm^2 großen Schnitt über 100 derartiger Follikel. Die Zellgrenzen besitzen im apikalen Bereich häufig an Kittleisten erinnernde Verstärkungen; die das Kolloid bzw. das Lumen der Pseudofollikel begrenzende Zytoplasmasschicht der einzelnen Zellen fällt vielfach durch stärkere Anfärbbarkeit auf. Die einzelnen Zelltypen beteiligen sich entsprechend ihrer Häufigkeit am Aufbau der Pseudofollikelwandung.

Die *Kolloideinschlüsse* (Abb. 3) sind unregelmäßig, zum Teil kantig geformt. Ihr großer Durchmesser erreicht 10μ , beträgt aber in der Regel nur etwa 5μ . Bei Azanfärbung tingiert sich das Kolloid hauptsächlich mit Anilinblau, doch enthält es oft auch unscharf begrenzte rote Bezirke oder färbt sich mit Orange an. Über das Verhalten des Kolloids bei speziellen Färbungen unterrichtet Tabelle Seite 772.

Der *perikapilläre Raum* (Abb. 2) ist nicht in allen Bezirken des Adenoms in der gleichen Weise ausgebildet; er tritt als relativ heller Bezirk von wechselnder

Tabelle

Methode	Fixierung	Ergebnis
Sudan II, kolloidal	CIACCIO	negativ
PAS-Reaktion	CARNOY, ZENKER, BOUIN	stark positiv
nach Diastasebehandlung	CARNOY	stark positiv
nach Acetylierung oder Benzoylierung	CARNOY	negativ
Ninhydrin-Schiff-Reaktion	CARNOY, ZENKER, BOUIN	positiv
nach Desaminierung (HNO_2)	CARNOY	negativ
nach Benzoylierung	ZENKER	positiv
Schiff-Reagens, 1 Std	CARNOY	negativ
	ZENKER	positiv
Diazetylbenzol	CARNOY	positiv
nach Benzoylierung	CARNOY	negativ
Methylenblau (auf der basischen Seite von $\text{pH } 6$)	CARNOY	positiv, meta- chromatisch

Weite an günstigen Stellen schon bei schwacher Vergrößerung deutlich in Erscheinung. Er ist sowohl gegen das Endothel als auch gegen die Epithelzellen durch eine feine, mit Anilinblau darstellbare Membran abgeschlossen. Sehr zarte, gewellte, in der gleichen Weise färbbare Fasern durchziehen ihn. Bisweilen füllen auch wesentlich gröbere, durch ihre starke Anfärbbarkeit mit Anilinblau auffallende Fasern den perikapillären Raum, welche die Gefäße in Längsrichtung begleiten. Regelmäßig beobachtet man zwischen den feinen Fasern *Zellen*, deren schmales Perikaryon nicht immer zu erkennen ist. Oft findet man dünne Zell-*ausläufer*, die sich im Azanpräparat durch ihre Orangefärbung deutlich von den blaugefärbten Bindegewebsfasern unterscheiden. Vereinzelt liegen auch *Mastzellen* im perikapillären Raum. Kleine Ansammlungen verschiedener Blutzellen sind selten.

b) Elektronenmikroskopische Befunde (EKA 1). Elektronenmikroskopisch gelang uns nur die Identifizierung der kleinen dunklen Zellen, der oxyphilen Zelle, der kolloidhaltigen Pseudofollikel und perikapillären Räume mit den Gefäßen. Kleine helle Zellen und großzellige Mikroadenome wurden nicht erfaßt.

Die kleine dunkle Zelle (Abb. 4—11). Diese das Adenom beherrschende Zelle zeichnet sich durch reichlichen Mitochondriengehalt, spärliches Ergastoplasma und einen wenig ausgedehnten Golgiapparat aus. Regelmäßig enthält sie einen großen kugelförmigen und andere kleinere Einschlüsse.

Die *Zellgrenzen* sind sehr verschieden gestaltet. Gegen die Basalmembran schließen die kleinen dunklen Elemente mit einer glatten Oberfläche ab. Die interzellulären Grenzen verlaufen weithin relativ gerade, sind aber streckenweise nicht deutlich sichtbar. *Desmosomen* (Abb. 5) sind sehr häufig. Sie erscheinen im Schnittbild in Form zweier symmetrischer Zonen von halbkreisförmigem Umriß. Der Durchmesser dieser Halbkreise liegt bei $120 \text{ m}\mu$. Dort, wo die Zellgrenzen eine Pseudofollikelrichtung erreichen, beobachtet man ausgedehntere desmosomale Strukturen („terminal bars“, „Haftplatten“): Es handelt sich dabei um häufig etwas weniger dichte Bildungen, die sich von der Oberfläche des Follikels an $0,5\text{--}1 \mu$ in die Tiefe erstrecken. Zwischen den Zellen treten

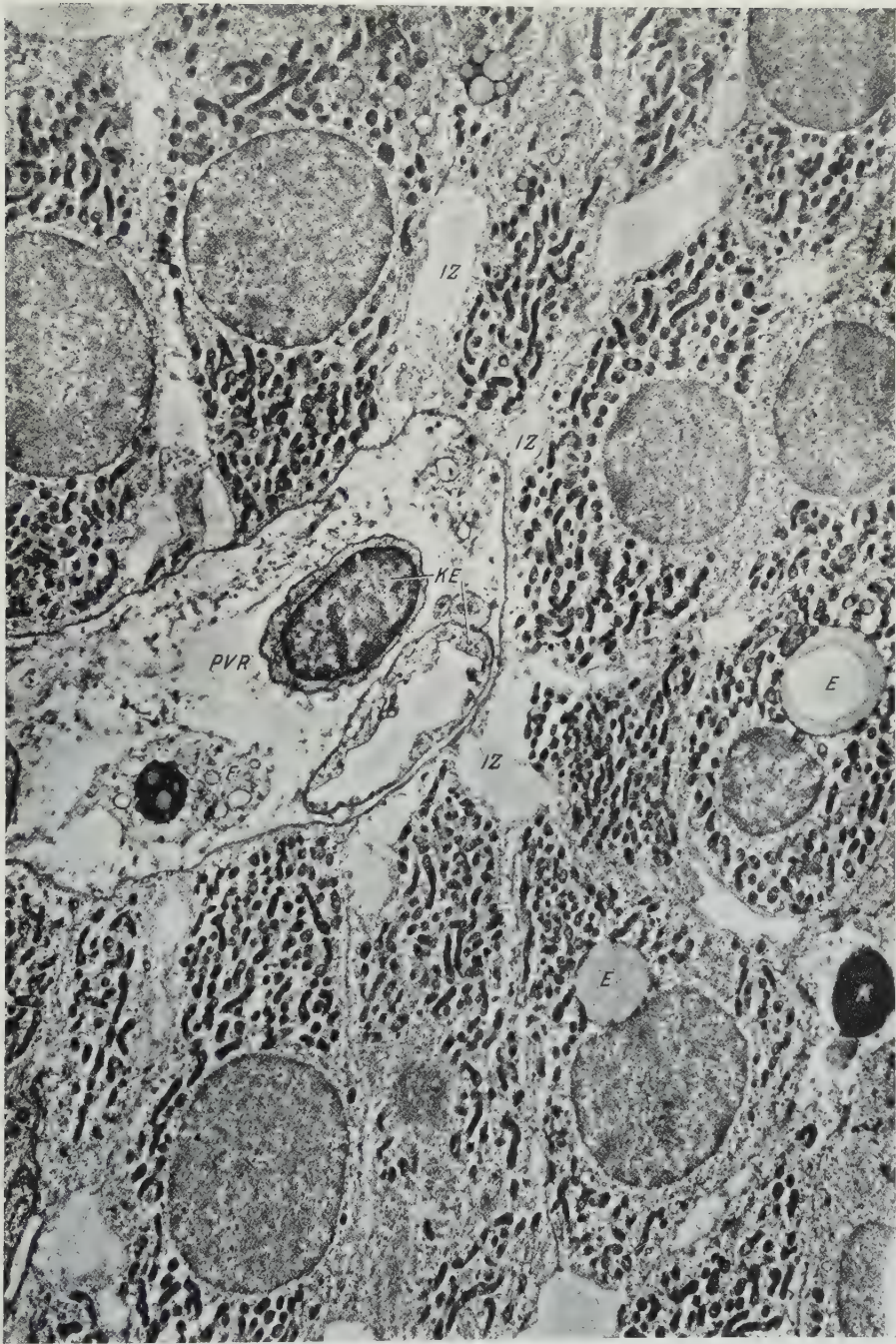


Abb. 1. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Übersicht: kleine dunkle Zellen. Beachte den Mitochondrienreichtum. *E* Große kugelige Einschlüsse; *F* „fibroblastoide Zelle“ mit massendichtem Einschuß; *IZ* interzelluläre Spalträume; *K* Kolloidkörper; *KE* Kapillarendothel; *PVR* perivaskulärer Raum. Elektronenmikroskopische Vergr. 1500 ×, Endvergr. 5800 ×, auf $\frac{2}{3}$ verkl.

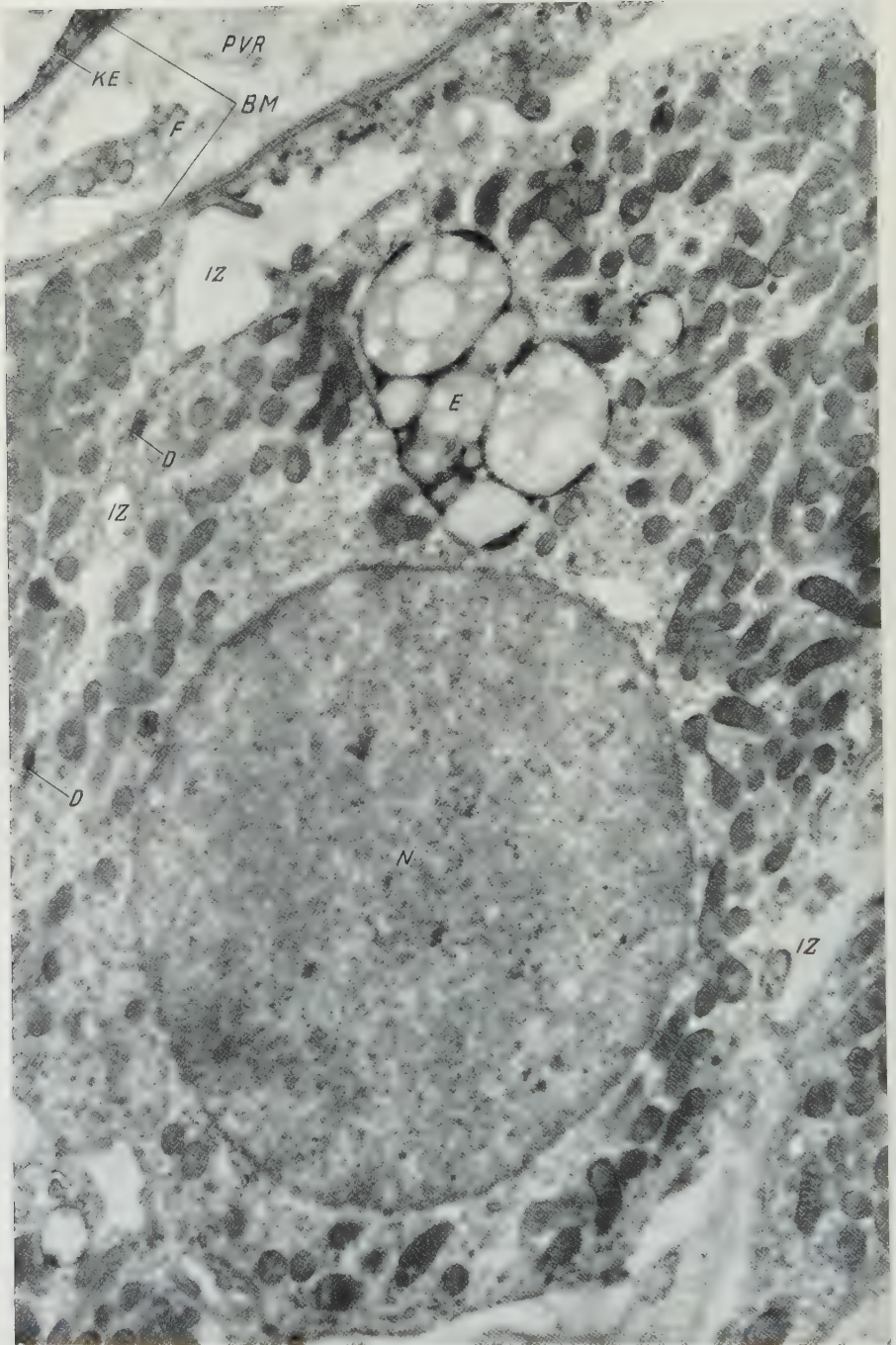


Abb. 5. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle. *BM* Basalmembran; *D* Desmosom; *N* Kern; übrige Angaben wie bei Abb. 4. Elektronenmikroskopische Vergr. 3700 ×, Endvergr. 14200 ×, auf $\frac{1}{7}$ verkl.

regelmäßig Interzellularräume auf, besonders reichlich am Kapillarende der Zellen. Wie die Abb. 5 zeigt, kommt es im Bereich solcher Räume zur Verzahnung der Zellen untereinander; gelegentlich beobachtet man auch hier Desmosomen.

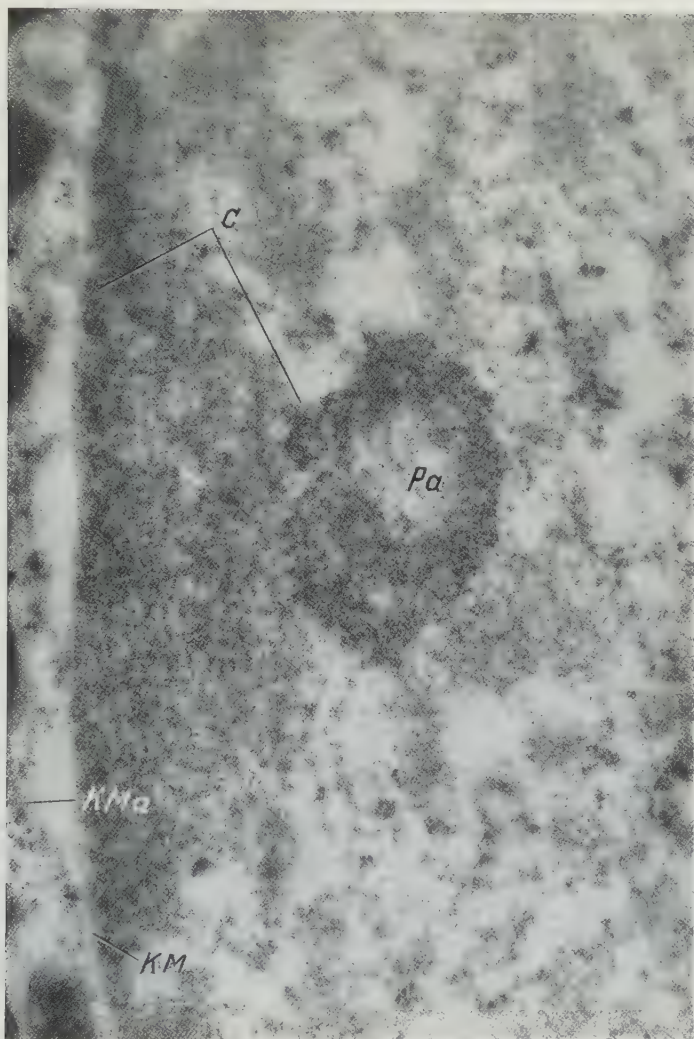


Abb. 6. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle. Nukleolus mit kegelförmiger Verbindung (C) zur inneren Kernmembran (KM). KMa äußere Kernmembran; Pa Pars amorpha. Elektronenmikroskopische Vergr. 8800 $\times$, Endvergr. 34500 $\times$

Der Kern der kleinen dunklen Zellen ist glatt konturiert und besitzt keine Einbuchtungen. Die doppelte Kernmembran ist im Gegensatz zu jener der Endothelzellen nur selten deutlich gezeichnet. In tangentialen Kernanschnitten kann man sehr deutlich zahlreiche Kernporen feststellen. Man erkennt Quer- oder Schrägschnitte von Röhren, deren innerer und äußerer Durchmesser etwa 30 bzw. 70 μ betragen. Das Lumen der Poren erscheint in günstigen Anschnitten optisch leer, ihre Wandung enthält — nicht immer deutlich erkennbare — massendichte Granula (Durchmesser etwa 150 Å).

Die *Nukleolen* (Durchmesser bis zu $2.3\ \mu$) bieten recht verschiedene Schnittbilder (Abb. 6, 7). Meistens befindet sich der überwiegende Teil der sog. *Pars amorpha* (Durchmesser bis zu $1.1\ \mu$) im Zentrum eines schalenartigen Bezirkes, der von den sog. *Nucleolonemata* gebildet wird; diese sind zu einem Maschenwerk aus anastomosierenden Strängen (Durchmesser etwa $150\ m\mu$) zu-

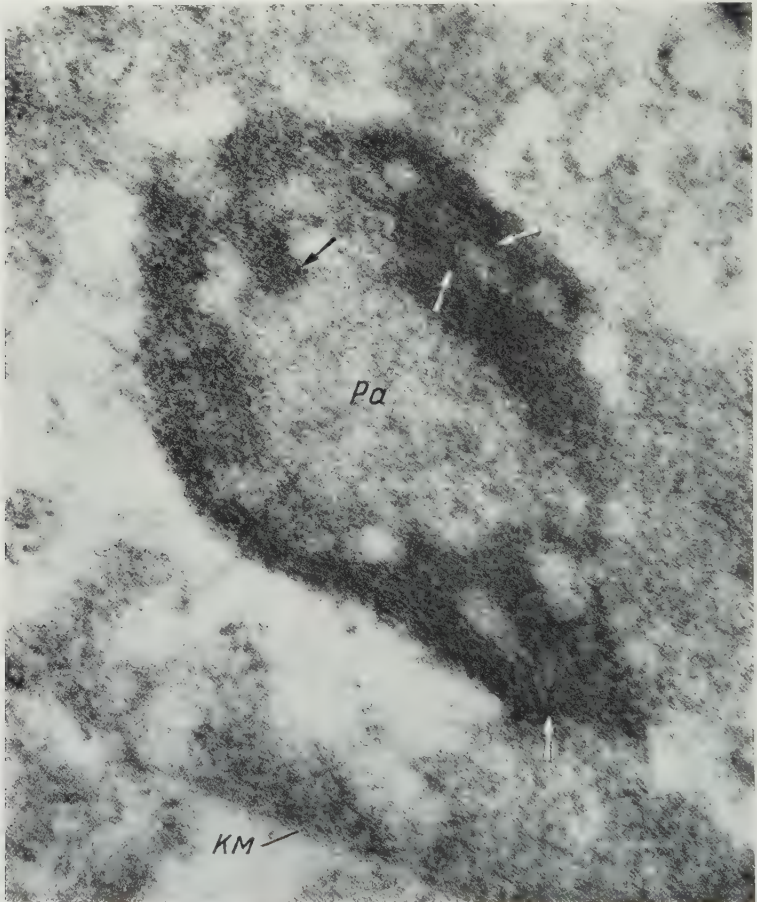


Abb. 7. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle. Nukleolus, der hauptsächlich aus dünnen Fibrillen besteht. Die Pfeile weisen auf massendichte Granula. *KM* innere Kernmembran; *Pa* *Pars amorpha*. Elektronenmikroskopische Vergr. $12\,500\times$, Endvergr. $50\,500\times$

sammengeschlossen. Die Öffnungen in diesem Maschenwerk können einen Durchmesser von $270\ m\mu$ erreichen, sind meistens aber nur $100\text{--}200\ m\mu$ weit. Andere Schnittbilder des Nukleolus zeigen nur anastomosierende *Nucleolonemata*, d. h. keine zentrale Ballung der *Pars amorpha*. Die *Nucleolonemata* bestehen hauptsächlich aus Fibrillen (Abb. 7) mit einem Durchmesser von etwa 50 , 100 und $200\ \text{\AA}$. Auffällig ist der wechselnde Anteil und die wechselnde Anordnung dieser Fibrillen. So können die *Nucleolonemata* in einem Nukleolusanschnitt z. B. fast nur aus $50\ \text{\AA}$ dicken Fibrillen bestehen, die vereinzelt $150\ \text{\AA}$ dicke Granula umgeben und an einigen Stellen in das Karyoplasma ausstrahlen (Abb. 7). In

anderen Nukleolusanschnitten werden die Nucleolonemata in den äußeren Teilen des Nukleolus von größeren, stark gewundenen Fibrillen und Granula (Durchmesser 150—200 Å) gebildet, während im Inneren Nucleolonemata aus 50 und 100 Å dicken Fibrillen vorherrschen. Derartige Fibrillen ziehen bisweilen auch in die Pars amorpha hinein. Die Nukleolus steht häufig durch eine im Schnitt-

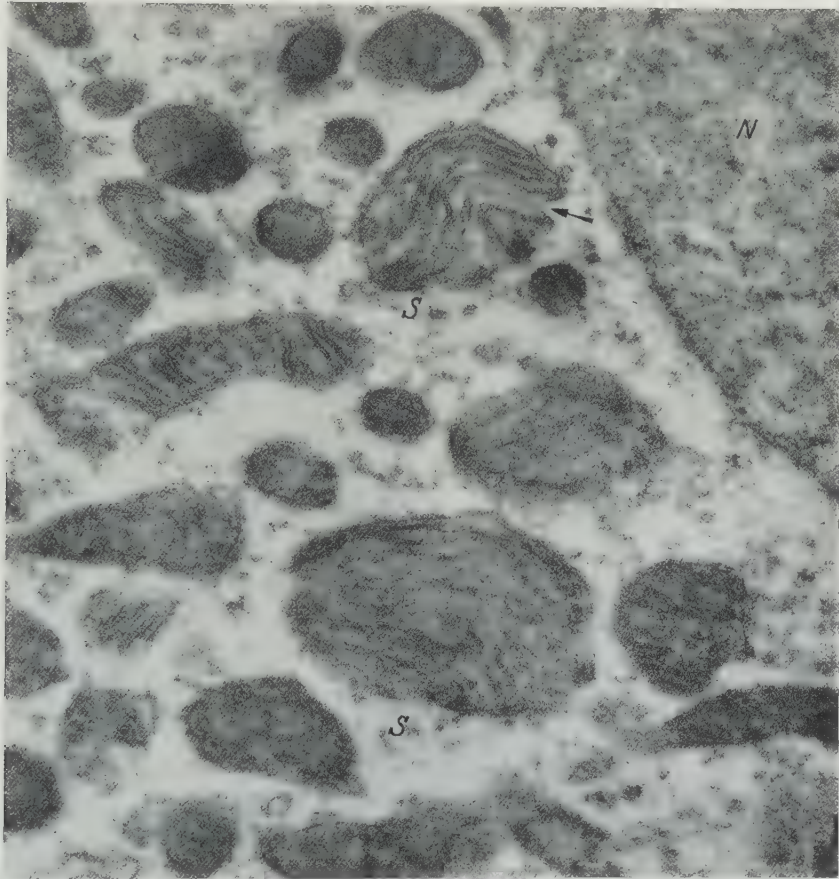


Abb. 8. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle (?). Spindelförmige Mitochondrien (S). N Kern; (→) s. S. 779. Elektronenmikroskopische Vergr. 7000 ×, Endvergr. 30 000 ×

bilde etwa keilförmige Anreicherung von fibrillärer Kernsubstanz mit der Kernmembran in breiter Verbindung. Die Anordnung der Fibrillen ist in diesen Bildungen unterschiedlich; nahe der Kernmembran sind sie bisweilen parallel zu dieser orientiert.

Die Mitochondrien (Länge bis zu 4 μ , Durchmesser 0.3—0.5 μ) bestimmen infolge ihrer auffallend großen Zahl das Strukturbild der kleinen dunklen Zelle (Abb. 4, 5). Zum überwiegenden Teil gehören sie dem langgestreckten Typ an, dessen Cristae quer zur Mitochondrienachse stehen. Bisweilen sind sie Y-förmig gegabelt. Ob Zellen mit allerdings selten anzutreffenden plumpen Mitochondrien vom Tubulustypus (Abb. 9) den kleinen dunklen Zellen mit Sicherheit zuzurechnen sind, kann nicht entschieden werden. Die Mitochondrien dieser

Zellen gehen nicht selten besondere Beziehungen zum Grundplasma ein, indem tropfige Zytoplasmateilchen fast vollständig von einem spiralig gewundenen bzw.

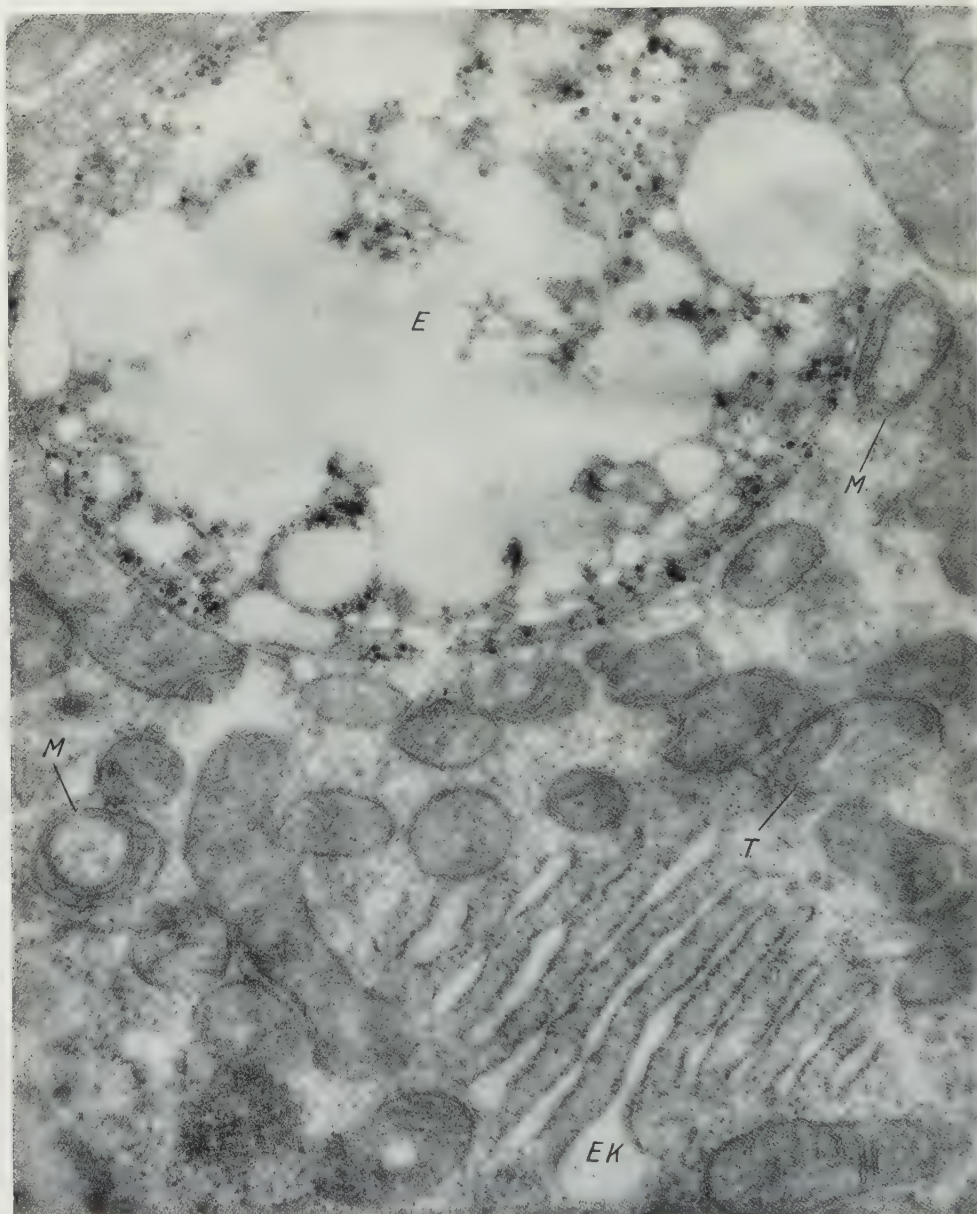


Abb. 9. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle. *E* Großer kugliger Einschuß; *EK* Ergastoplasmakomplex in der für die kleine dunkle Zelle größten Ausdehnung; *M* Mitochondrium, einen Zytoplasmotropfen umgreifend; *T* Mitochondrium mit tubulärer Innenstruktur.
Elektronenmikroskopische Vergr. 8800 $\times$, Endvergr. 34500 $\times$, auf $\frac{1}{5}$ verkl.

eingebuchteten Mitochondrium umschlossen werden. Das Grundplasma ist im Bereich derartiger Mitochondrien reich an etwa 200 Å messenden Granula. Eine

andere Variante der Mitochondrien ist spindelförmig gestaltet (Abb. 8) und enthält in Längsrichtung orientierte Cristae. Oft zeichnet sich im Bereich eines

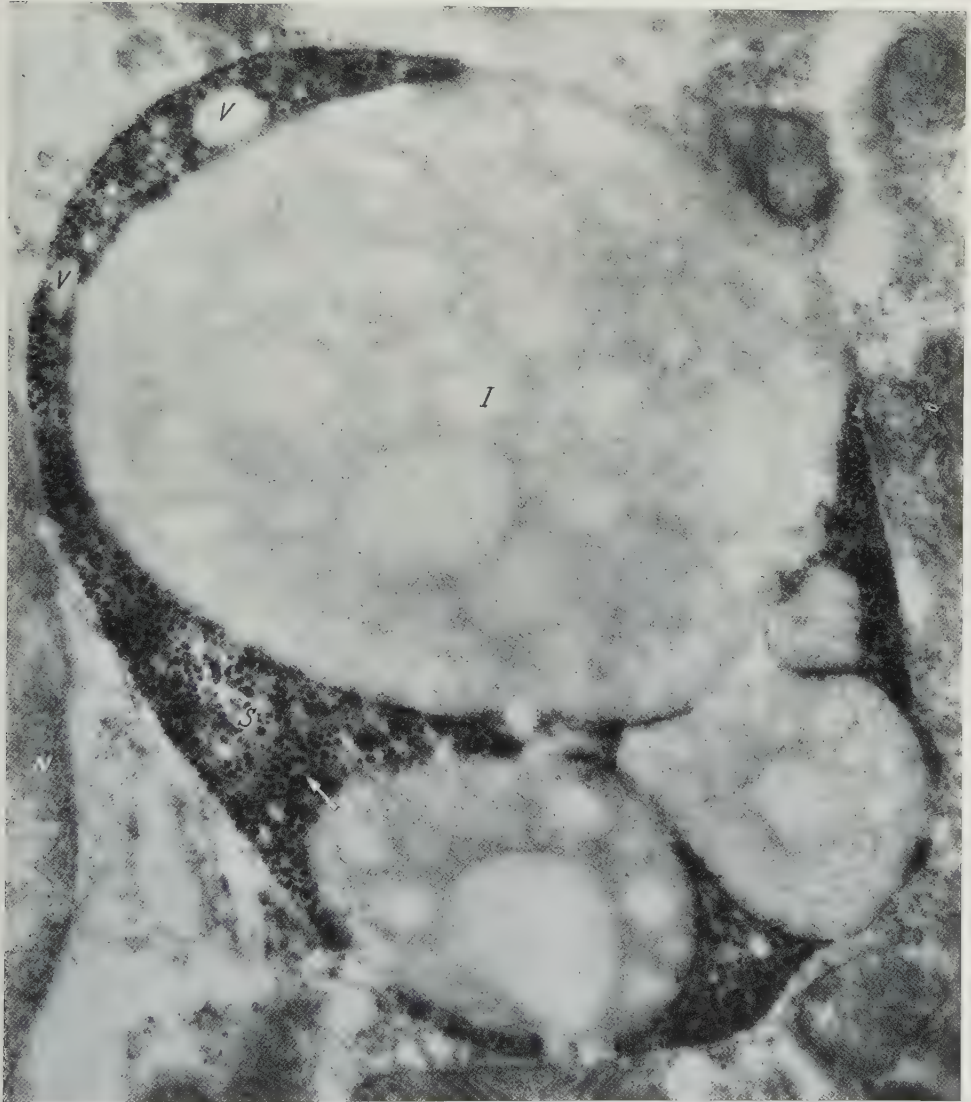


Abb. 10. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle. Großer kugliger Einschuß. *I* vakuo-
lisierter Inhalt des Einschlusses; *N* Kern; *S* Schale aus massendichten Granula, stellenweise in regel-
mäßigen Abständen liegend ($\rightarrow$); *V* s. S. 781. Elektronenmikroskopische Vergr. 10 900 $\times$,
Endvergr. 42 000 $\times$, auf $\frac{4}{5}$ verkl.

Spindelpoles eine Aufspaltung des Mitochondriums ab, wobei es zum Auseinander-
weichen der beiden Lamellen einer Crista kommt (Abb. 8, Pfeil). Die äußere
elektronendichte Membran der Mitochondrienhülle ist vielfach nicht zu erkennen,
besonders bei den spindelförmigen Organellen. Möglicherweise handelt es sich
dabei um ein Artefakt.

Ein typischer *Golgiapparat* wird häufig gefunden. Seine Anschnitte liegen perinukleär oder in der Zellperipherie; auf günstigen Schnitten ist der Golgi-

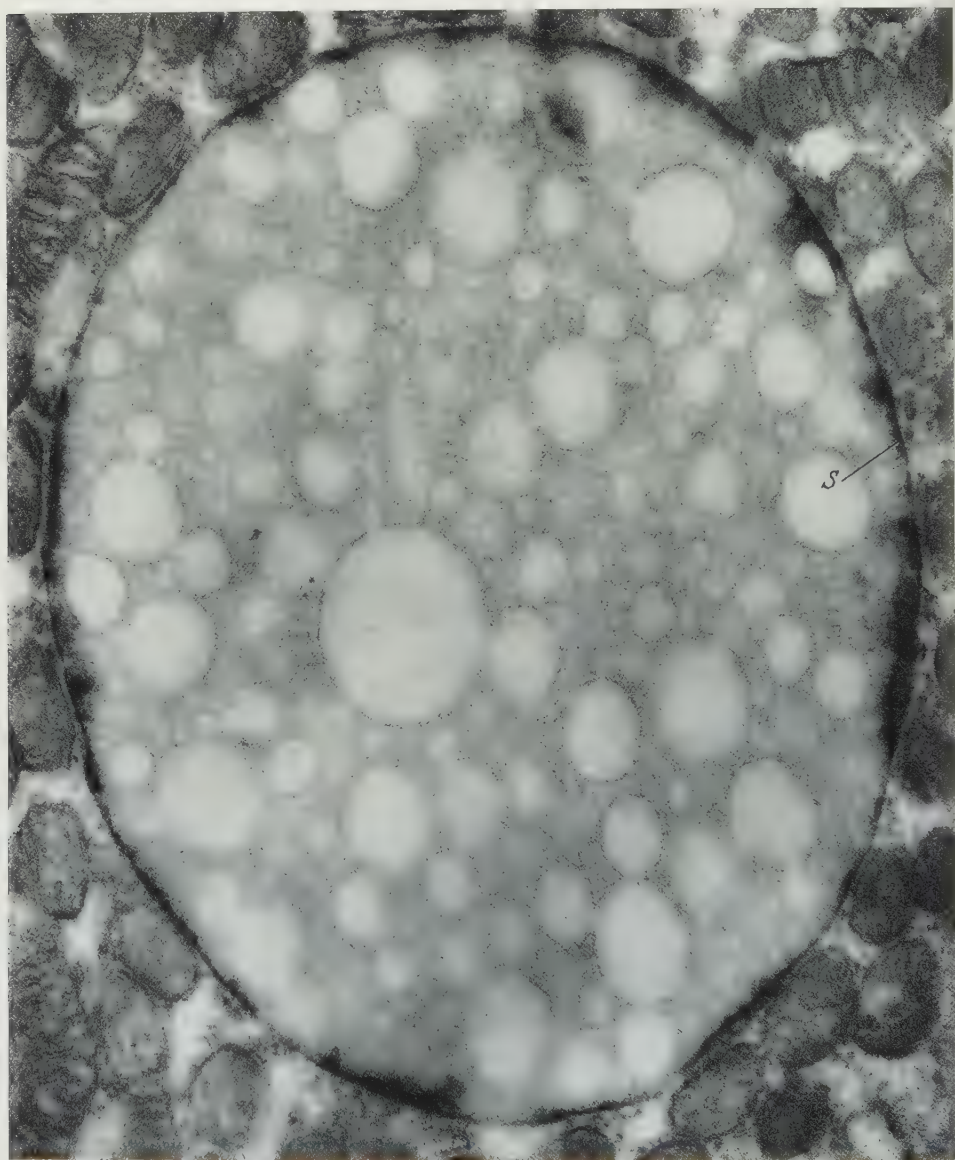


Abb. 11. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kleine dunkle Zelle. Großer kugeliger Einschuß mit sehr dünner, massendichter Schale (S), von Mitochondrien umgeben. Elektronenmikroskopische Vergr. 10900 $\times$, Endvergr. 42000 $\times$, auf $\frac{1}{5}$ verkl.

apparat vom Kern bis zur Zellgrenze zu verfolgen. Er besteht aus bis zu 7 Lamellenpaaren. Die von den Lamellen umschlossenen Vakuolen erreichen eine Weite von 170 m μ . Diesen Vakuolenkomplex umgibt eine große Anzahl runder Profile. Ihr Inneres zeichnet sich durch eine etwas geringere Dichte als ihre Membran aus.

Gelegentlich fanden wir am Rande des Golgikomplexes ein *Zentriol* bzw. ein *Diplosom* (vgl. BERNHARD u. DE HARVEN 1960). Es handelt sich um einen Zylinder mit einem inneren Durchmesser von etwa $100\text{ m}\mu$ und einer Gesamtlänge von ungefähr $550\text{ m}\mu$. Die sehr elektronendichten Fibrillen des Zylindermantels haben einen Durchmesser von etwa $250\text{ \AA}$.

Im Anschluß an die Darstellung des Golgiapparates sind Strukturen zu erwähnen, die zu ihm in topographischer Beziehung stehen. Es handelt sich um optisch leer erscheinende *Vakuolen* mit einem Durchmesser von etwa $350\text{ m}\mu$. Bisweilen finden sich in ihrem Zentrum kleine Bläschen (Durchmesser ungefähr $400\text{ \AA}$). Die schwach ausgebildete Membran der Vakuolen umgeben Bläschen bzw. Kanälchen in etwa radiärer Anordnung. Der Durchmesser der letzteren, teils ganz, teils nur in der Außenschicht mäßig elektronendichten Gebilde beträgt $240\text{--}630\text{ \AA}$.

Das spärliche *Ergastoplasma* (Abb. 9) besteht aus nicht scharf gezeichneten Membranen, die mit Ribonukleoproteid(RNP)-Granula besetzt bzw. von ihnen umlagert sind. Die von diesen Membranen begrenzten Spalten besitzen eine freie Lichtung von etwa $65\text{ m}\mu$. Einzelne, verhältnismäßig kleine ergastoplasmatische Profile (unter $1\text{ }\mu$ Länge) findet man in Kernnähe, in der Zellperipherie nahe dem Plasmalemm und zwischen den Mitochondrien. Ergastoplasma-komplexe (Flächeninhalt $3\text{--}4,5\text{ }\mu^2$) aus $5\text{--}10$ parallelierten Membranpaaren liegen in der Regel nahe der apikalen Zelloberfläche.

Die großen kugelförmigen *Einschlüsse* (Abb. 1, 2, 9—11), die man bereits lichtmikroskopisch (s. S. 769) erkennt, sind als verhältnismäßig einförmige Gebilde (größter Durchmesser $5,1\text{ }\mu$) in fast allen Zellen zu beobachten; sie liegen dem Kern in der Regel dicht an und dellen ihn oft etwas ein. Diese Gebilde besitzen eine verhältnismäßig massendichte, oft sehr dünne Schale und einen weniger dichten, vakuolisierten Inhalt (Abb. 1, 2, 9—11); stellenweise scheint die Schale zu fehlen. Häufig besteht sie aus einer unterschiedlich dicken Schicht äußerst massendichter Granula (Durchmesser etwa $480\text{ \AA}$) (Abb. 9 und 10), die bisweilen in regelmäßigen Abständen ($50\text{ \AA}$) gelagert sind. Stellenweise ist dieses Gefüge der Schale durch größere, gut begrenzte Bläschen (Abb. 10, V) unterbrochen, deren Dichte mit wachsender Größe abnimmt. Um kleine Formen der beschriebenen Einschlüsse handelt es sich wahrscheinlich bei unter $1\text{ }\mu$ messenden rundlichen Gebilden mit einer massendichten Schale und einem weniger dichten, nicht vakuolisierten Inhalt.

Regelmäßig festzustellen sind kleinere (Durchmesser etwa $0,5\text{ }\mu$) homogene, unregelmäßig begrenzte, massendichte Granula, sog. *Lipoideinschlüsse*. Eine häufiger vorkommende andere Art ebenfalls massendichter, aber kleinerer Einschlüsse (Länge bis zu $0,5\text{ }\mu$; Dicke etwa $0,25\text{ }\mu$) ist immer rundlich, oft langgestreckt oder gekrümmt. Beide Formen von Einschlüssen liegen einzeln zwischen den Mitochondrien. Die zweite Art findet sich bisweilen in größerer Anzahl am vaskulären Zellpol.

Das *Grundplasma* (Abb. 9) enthält wechselnde Mengen nicht membran-gebundener Granula mit einem Durchmesser von durchschnittlich $200\text{ \AA}$. Sie unterscheiden sich von den Palade-Granula durch ihren größeren Durchmesser und ihre geringere Massendichte. Die an die Basalmembran grenzende Zyto-

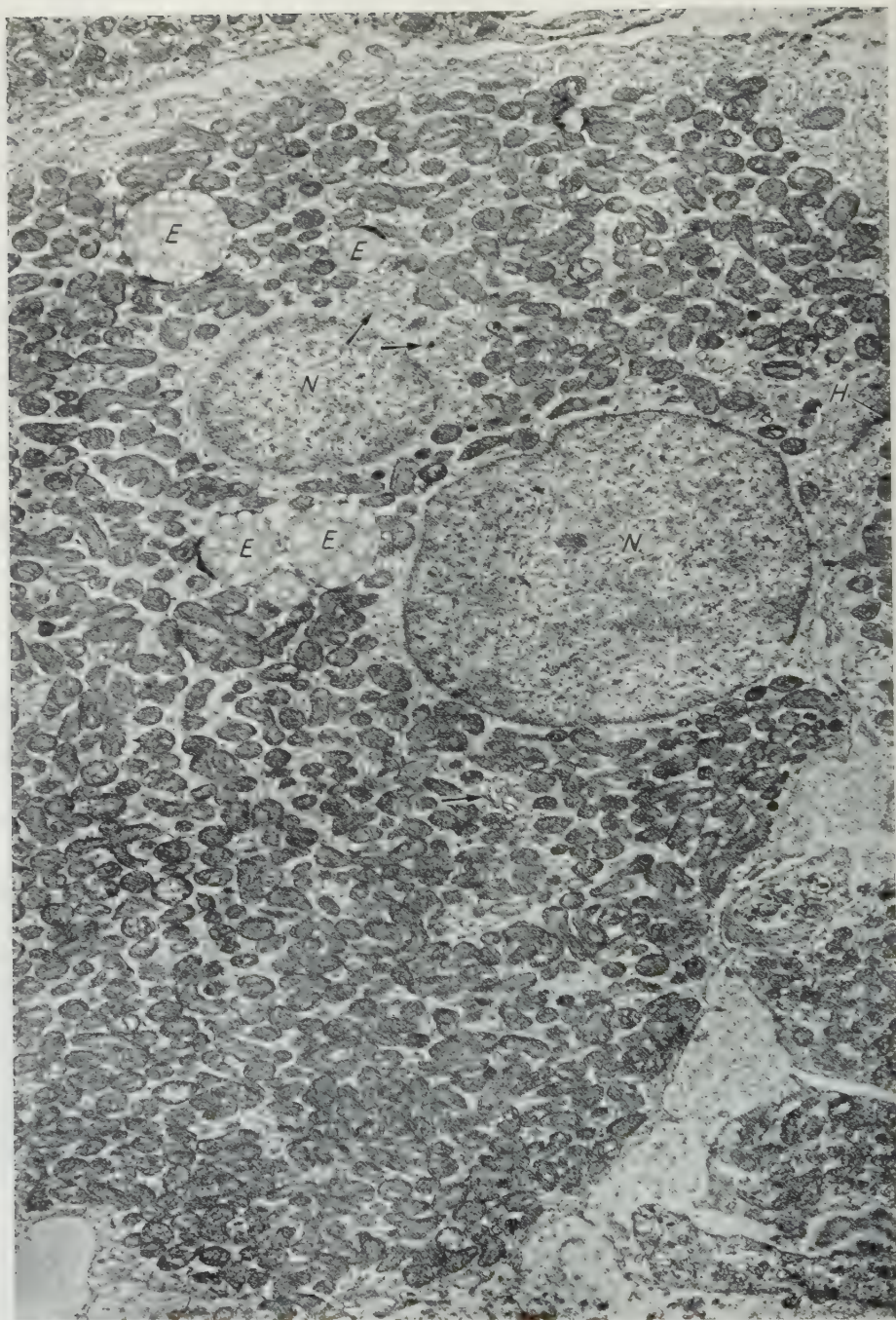


Abb. 12. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Oxyphile Zelle. Man beachte den außerordentlichen Mitochondrienreichtum. *E* Großer kugelförmiger Einschuß; *H* Haftplatte; *N* Kern; die Pfeile weisen auf Golgi-Komplexe. Elektronenmikroskopische Vergr. 2000 $\times$, Endvergr. 9000 $\times$, auf $\frac{1}{5}$ vergrößert.

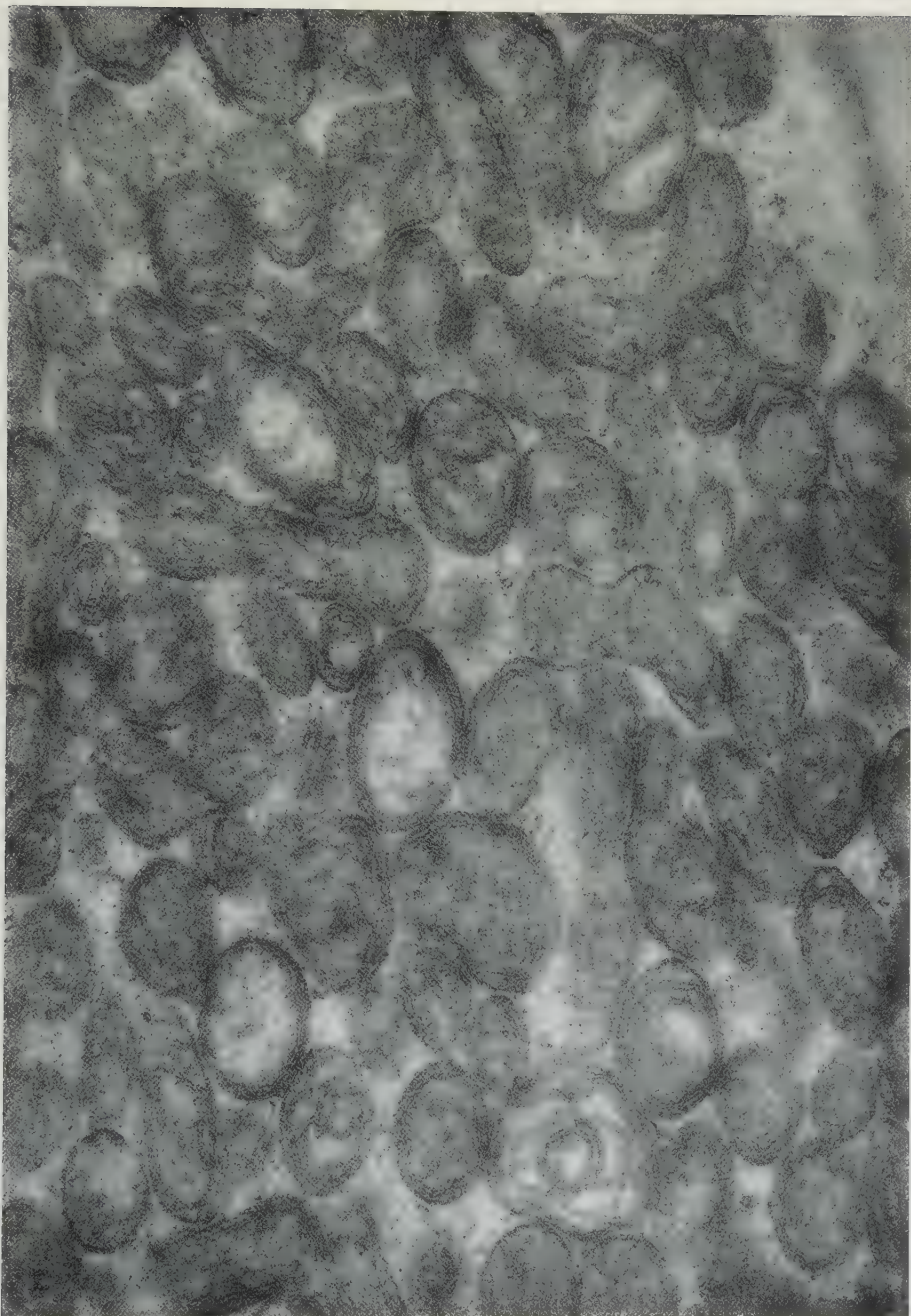


Abb. 13. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Oxyphile Zelle. Mitochondrien, darunter mehrere mit spiralig orientierten Cristae. Elektronenmikroskopische Vergr. 8800 $\times$, Endvergr. 34 500 $\times$, auf $\frac{9}{10}$ verkl.

plasmaschicht ist relativ reich an kleinen, optisch leeren Bläschen (Durchmesser etwa 400 Å).

Die *oxyphile Zelle* (Abb. 12—14). Unsere Befunde beziehen sich bedauerlicherweise auf nur eine oxyphile Zelle, die wir in 7 nicht unmittelbar aufeinanderfolgenden Schnitten beobachten konnten. Sie grenzt an einen größeren interzellulären Spaltraum mit verhältnismäßig glatter Oberfläche, die sehr vereinzelt dünne, mikrovilliähnliche Fortsätze (Durchmesser etwa $100\text{ m}\mu$; Länge bis zu $1\text{ }\mu$) trägt. Die Verbindung mit benachbarten Zellen erfolgt durch kleine und größere Haftplatten. Diese Zelle weist 2 Kernanschnitte (Abb. 12—14) auf; wahrscheinlich handelt es sich um ein doppelkerniges Element. Die Kernstruktur erscheint im ganzen weniger dicht als die der Kerne der kleinen dunklen Zellen. Die dicht strukturierten Nukleolen (Durchmesser $1,6\text{ }\mu$ bzw. $0,85\text{ }\mu$) bestehen aus eng gelagerten, anastomosierenden Nucleolonemata, der Abstand zwischen letzteren ist klein (größte Weite $240\text{ m}\mu$).

Die *Mitochondrien* (Länge bis zu $2,9\text{ }\mu$; Dicke $0,5\text{--}0,8\text{ }\mu$) sind, wie bereits BAKER (1942) und TRIER (1958) lichtmikroskopisch bzw. elektronenmikroskopisch an tierischem Material feststellten, ungewöhnlich zahlreich und dicht gepackt (Abb. 13). Ihr Strukturbild ist überaus vielfältig. Einzelne Mitochondrien besitzen quer, andere schräg oder parallel zur Längsachse orientierte Cristae. Bisweilen kommen in ein- und demselben Mitochondrium Cristae in verschiedener Ausrichtung nebeneinander vor. Ferner findet man Anschnitte von Mitochondrien, deren Cristae parallel zur Längsachse und fast ausschließlich dicht unter der Mitochondrienhülle verlaufen, so daß die Matrix als „Kern“ des Mitochondriums imponiert. Kürzere Mitochondrienanschnitte — offenbar Schrägschnitte — zeigen eine Verbindung zwischen den Cristaequerschnitten gegenüberliegender Seiten. Gedrungene Mitochondrienanschnitte — offenbar Querschnitte — lassen spiralig gewundene Cristae erkennen, die dicht unter der Mitochondrienwandung verlaufen und eine zentrale, meistens aufgehellte Matrix umschließen. Betrachtet man diese 3 Arten von Mitochondrienanschnitten als verschieden schräge Schnitte durch Mitochondrien gleichen Bautyps, so entsteht das Bild eines Organells mit längsorientierten, spiralig verlaufenden und vorzugsweise peripher gelegenen Cristae (Abb. 13).

Der *Golgiapparat* der oxyphilen Zelle ist ausgedehnt. Mit TRIER (1958) finden wir seine Anschnitte an verschiedenen Orten der Zelle. Beim Vergleich der verschiedenen Schnitte (Abb. 14) gewinnt man den Eindruck, daß in der in Rede stehenden Zelle 4 nicht unmittelbar miteinander verbundene Golgikomplexe vorhanden sind (Abb. 14). Jeder der beiden Kerne (N_1 , N_2) erscheint als Ausgangspunkt für je einen Komplex (G_1 , G_2), der sich zur Zelloberfläche erstreckt, und für je einen Komplex (g_1 , g_2), der sich auf der Gegenseite des Kernes nur perinukleär beobachten läßt (Abb. 14). Die Golgikomplexe bestehen aus Doppellamellenstapeln von knapp $1,5\text{ }\mu$ Länge. Ihre vakuolären Erweiterungen (Durchmesser bis zu 370 bzw. $170\text{ m}\mu$) sind optisch völlig leer. Wie bei den kleinen dunklen Zellen finden sich in der Außenzone der Golgikomplexe der oxyphilen Zelle zahlreiche kleine rundliche Profile (Durchmesser $360\text{--}600\text{ \AA}$) mit mäßig massendichtem Inneren und einzelne große Vakuolen, die im Schnittbild von solchen kleinen Profilen umlagert sind und diese bisweilen auch in ihrem Lumen enthalten (s. S. 781).

Das *Ergastoplasma* ist in Form isolierter Profile (Durchmesser etwa $0,5\text{ }\mu$ bzw. $100\text{ m}\mu$) ausgebildet, die in sehr geringer Anzahl im Zelleib verstreut liegen.

Die oxyphile Zelle enthält die gleichen *Einschlüsse* wie die kleine dunkle Zelle. Die großen kugelförmigen Einschlüsse kommen in der oxyphilen Zelle

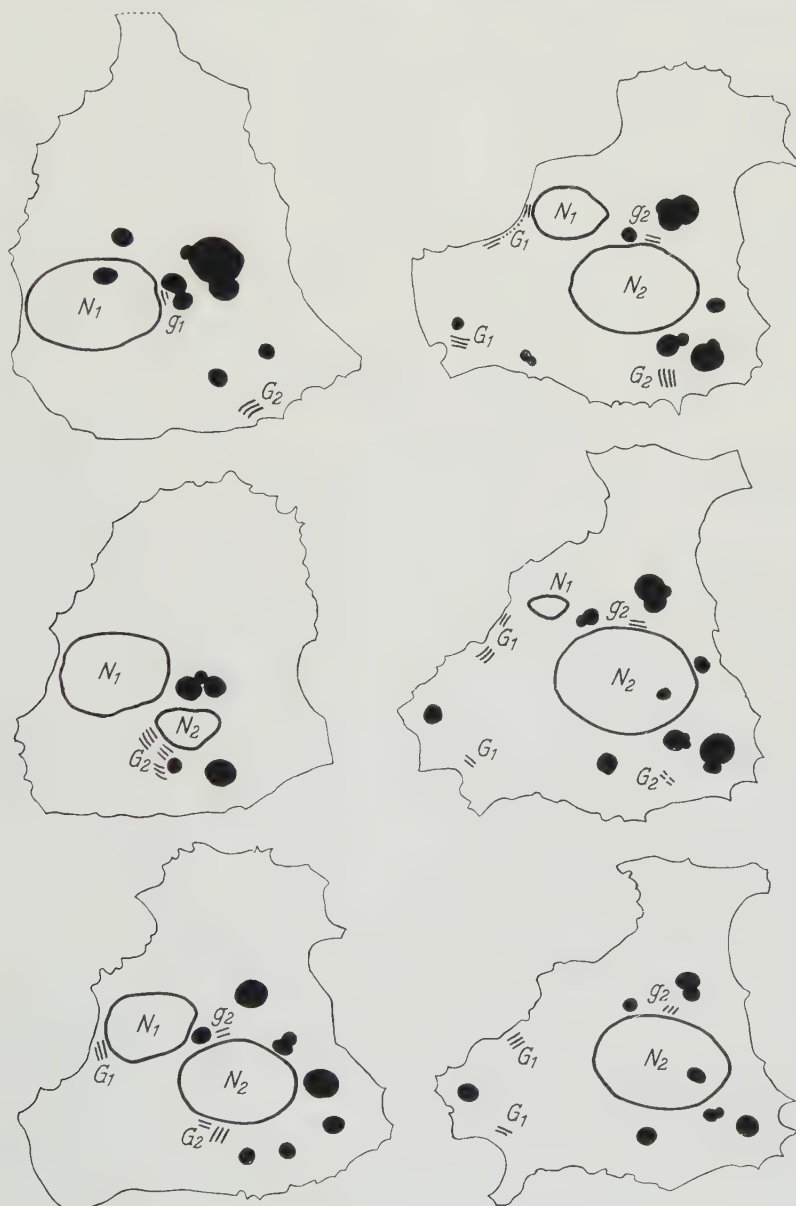


Abb. 14. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Oxyphile Zelle. Darstellung von 6 Dünnschnitten einer Zelle. Die großen kugelförmigen Einschlüsse und Nukleolen als schwarze Flächen dargestellt. Weitere Erläuterung im Text (S. 784)

in größerer Anzahl vor; sie sind unregelmäßig im Zelleib verteilt (Abb. 12 und 14). Die anderen Arten von Einschlüssen sind nur in sehr geringer Zahl vorhanden.

Das *Grundplasma* der oxyphilen Zelle enthält spärliches granuläres Material (Durchmesser 150—240 Å). Vereinzelt finden sich zwischen den Mitochondrien kleine rundliche Profile (Durchmesser 40—150 m μ), die wahrscheinlich dem endoplasmatischen Retikulum angehören.

Pseudofollikel und kolloidartige Einschlüsse. Die die Lichtung der Pseudofollikel begrenzenden Zelloberflächen sind mit in der Regel zylindrischer Mikrovilli (Länge etwa 1 μ , Durchmesser 125 m μ) ausgestattet, die nach unseren Feststellungen distinkte Granula (Durchmesser etwa 200 Å) enthalten (Abb. 15), wenn ein Einschluß in der Follikellichtung liegt. In diesen Fällen beobachtet man häufig Auftreibungen an den Mikrovilli, die Durchmesser von 200 m μ und mehr erreichen.

Der Inhalt der Pseudofollikel ist höchst auffällig strukturiert (Abb. 15—18). Im typischen Fall besteht das Sekret aus einer kompakten inneren und einer netzig gebauten, sie umschließenden äußeren Zone (Abb. 15—16). Der zentrale Bezirk des Sekrets (größte Ausmaße 1,5 $\times$ 2,4 μ , 1,1 $\times$ 2,8 μ) wechselt in seiner Form; sein Durchschnitt kann länglich-rund oder nahezu quadratisch sein. Im Schnittbild zeigt er sehr häufig eine regelmäßige parallele Streifung (Abb. 17) mit einer Periode zwischen 125 und 210 Å. Die die Streifung hervorrufenden stärker massendichten Schichten weisen Unregelmäßigkeiten in der Begrenzung und im Verlaufe auf. Die Richtung der Streifung bleibt zwar im großen und ganzen die gleiche, doch ist der einzelne Streifen meist nicht kontinuierlich, so daß man ihn nur über eine kurze Strecke verfolgen kann. Stellenweise ist das geschichtete Gefüge auch durch kleine ungeordnete, amorphe oder granuläre Partien unterbrochen. Im einen Fall sind die Streifen leicht gekrümmt, in anderen Fällen findet man Versetzungen im Gefüge, d. h. es treten keilförmige Partien mit andersgerichteter Streifung auf. Die großen Unterschiede in der Periode können nicht mit einem Wechsel der Schnittrichtung erklärt werden: Bei einer mittleren Schnittdicke von 500 Å und dem im krassesten Fall erforderlichen Schnittwinkel von 53° ($125/210 = \cos 53^\circ$) würden sich 3—4 Schichten überlagern: Die Entstehung eines Streifungsbildes ist unter diesen Umständen nicht vorstellbar.

Der Schnitt durch den peripheren Anteil des Sekrets („Hülle“) (Abb. 15 und 16) zeigt ein Netzwerk aus etwa 80 m μ dicken, unscharf konturierten Strängen mit verwaschener granulärer Struktur. In den wechselnd großen, etwa 100 m μ weiten Netzmaschen liegen Granula mit stark variierendem Durchmesser (30 bis 100 m μ). Die Anschnitte der größeren Körnchen zeigen eine zentrale Aufhellung. Die Hülle kann zu einer einzigen Lamelle reduziert sein; bisweilen liegt geschichtetes Sekret auch nackt im Follikel. In einem Fall wurden faserige Massen beobachtet, die von den tieferen Teilen der „Hülle“ auszugehen scheinen, durch das Maschenwerk nach außen ziehen und sie in verschiedenen gerichteten Zügen umwickeln (Abb. 18).

Der perikapilläre Raum (Abb. 4, 5, 18). Unsere Beobachtungen am perikapillären Raum stimmen weitgehend mit denen LEVERS (1957: „subendothelial space“) und TRIERS (1958: „perivascular space“) überein. Eine subendotheliale und eine subepitheliale Basalmembran fassen den perivaskulären Raum zwischen sich. Die Basalmembranen erscheinen als verwaschen begrenzte, relativ massendichte Schichten mit einer Dicke von etwa 40 m μ ; die subepitheliale

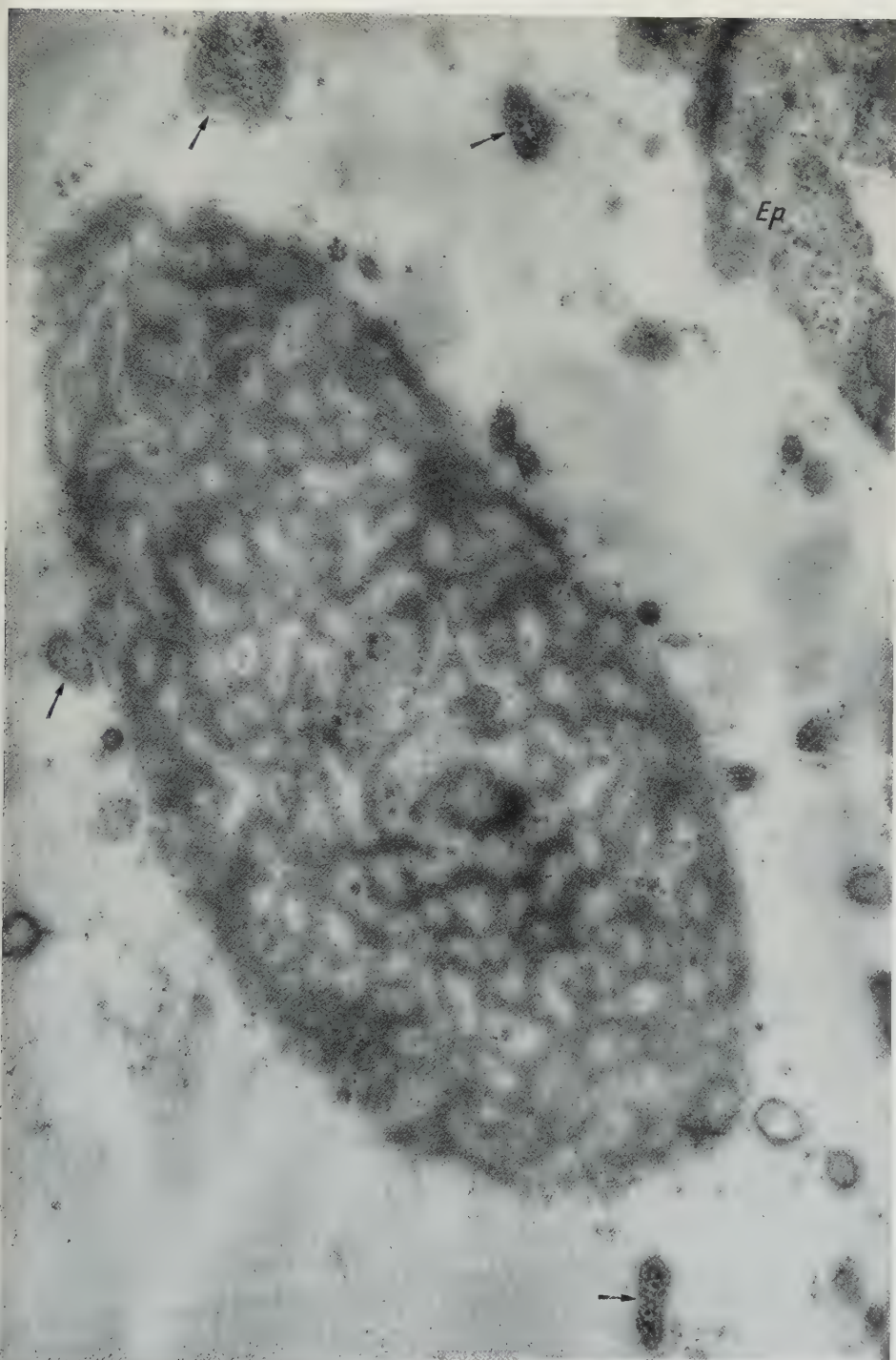


Abb. 15. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Pseudofollikel mit Kolloideinschluß, dessen „Hülle“ angeschnitten ist. Die Pfeile weisen auf Mikrovilli, die reich an relativ massendichten Granula sind.

Ep Epithelzelle. Elektronenmikroskopische Vergr. 8000 $\times$, Endvergr. 31000 $\times$, auf $\frac{1}{10}$ verkl.

Membran mißt jedoch bisweilen $60\text{ m}\mu$. Das optisch leere Intervall zwischen Plasmalemm und Basalmembran, die sog. Zementsubstanzschicht nach PEASE (1960), mißt etwa $40\text{ m}\mu$, an den Epithelzellen bisweilen etwas mehr. Die subepitheliale Basalmembran ist als kontinuierliche Bildung stets gut sichtbar. Für die subendotheliale Basalmembran können wir diese Feststellung nicht immer treffen. Insbesondere bei starker Einengung des perikapillären Raumes auf

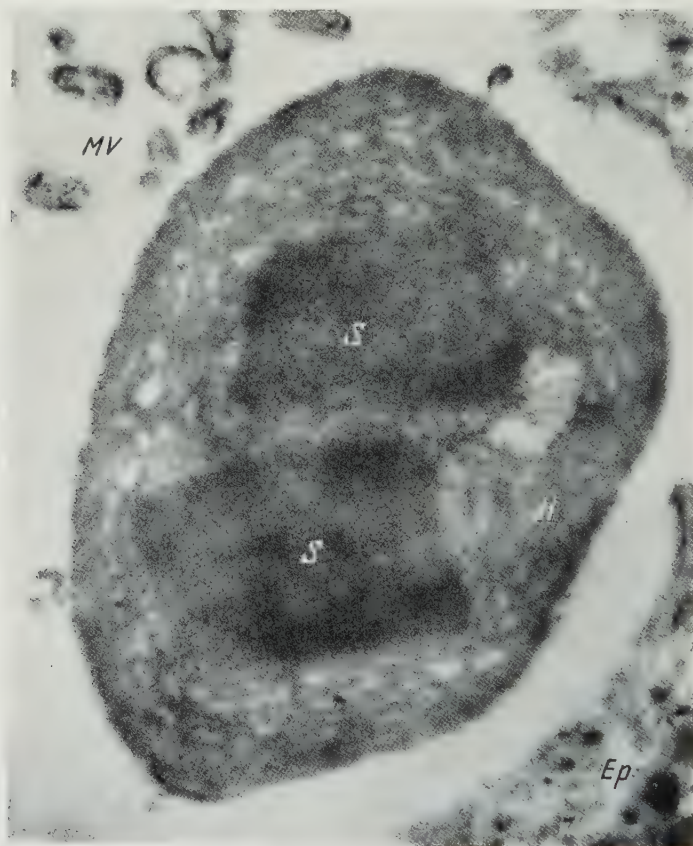


Abb. 16. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kolloidkörper. *Ep* Epithelzelle; *H* „Hülle“; *MV* Mikrovilli; *S* „geschichtetes Kolloid“. Elektronenmikroskopische Vergr. $6500\times$, Endvergr. $23\,000\times$

$200\text{--}140\text{ m}\mu$ (gemessen von Plasmalemm zu Plasmalemm) erscheint die subendotheliale Basalmembran — wie die Abb. 19 zeigt — häufig nur bruchstückhaft. Im allgemeinen beträgt der Abstand zwischen Endothel und Epithelzellen $0,5\text{--}1\text{ }\mu$, doch findet man nicht selten wesentlich weitere Räume.

Innerhalb des perikapillären Raumes befinden sich mehr oder weniger spindelförmige Zellen, die den von EKHOLM und EDLUND (1959: interazinärer Raum des Pankreas) beschriebenen „fibroblastoiden Zellen“ entsprechen. Der Kern dieser Zellen ist von einer nur $100\text{--}200\text{ m}\mu$ dicken Zytoplasmaschicht umschlossen. Lange, schmale Zellfortsätze reichen bisweilen dicht an die Basalmembranen heran. Die fibroblastenähnlichen Zellen enthalten Einschlüsse, die den großen kugeligen Einschlüssen in den Epithelzellen strukturell teils gleichen,

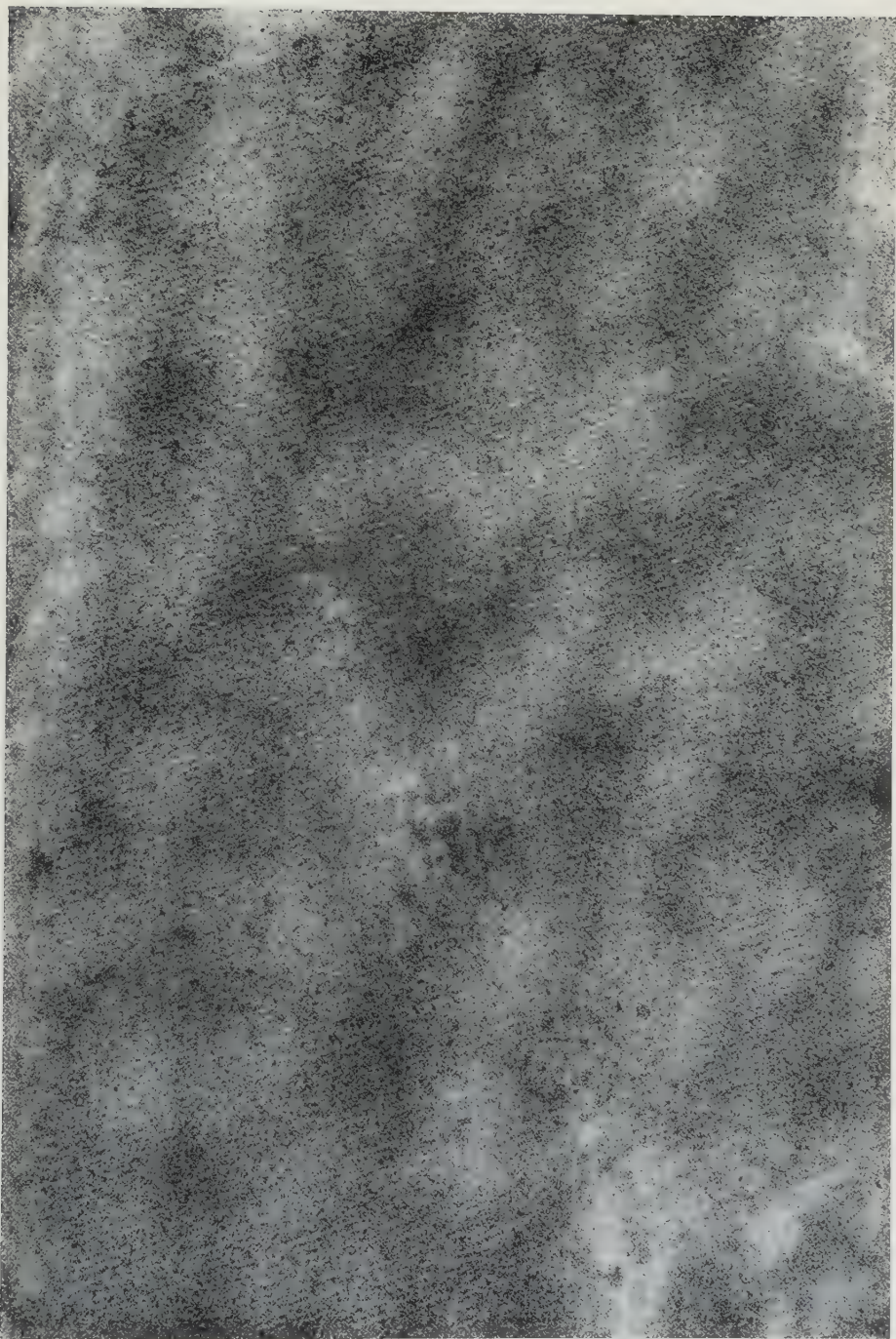


Abb. 17. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kolloidkörper. Lamelläre Feinstruktur des Kolloids. Elektronenmikroskopische Vergr. 10 900 $\times$, Endvergr. 87 200 $\times$, auf $\frac{9}{10}$ verkl.

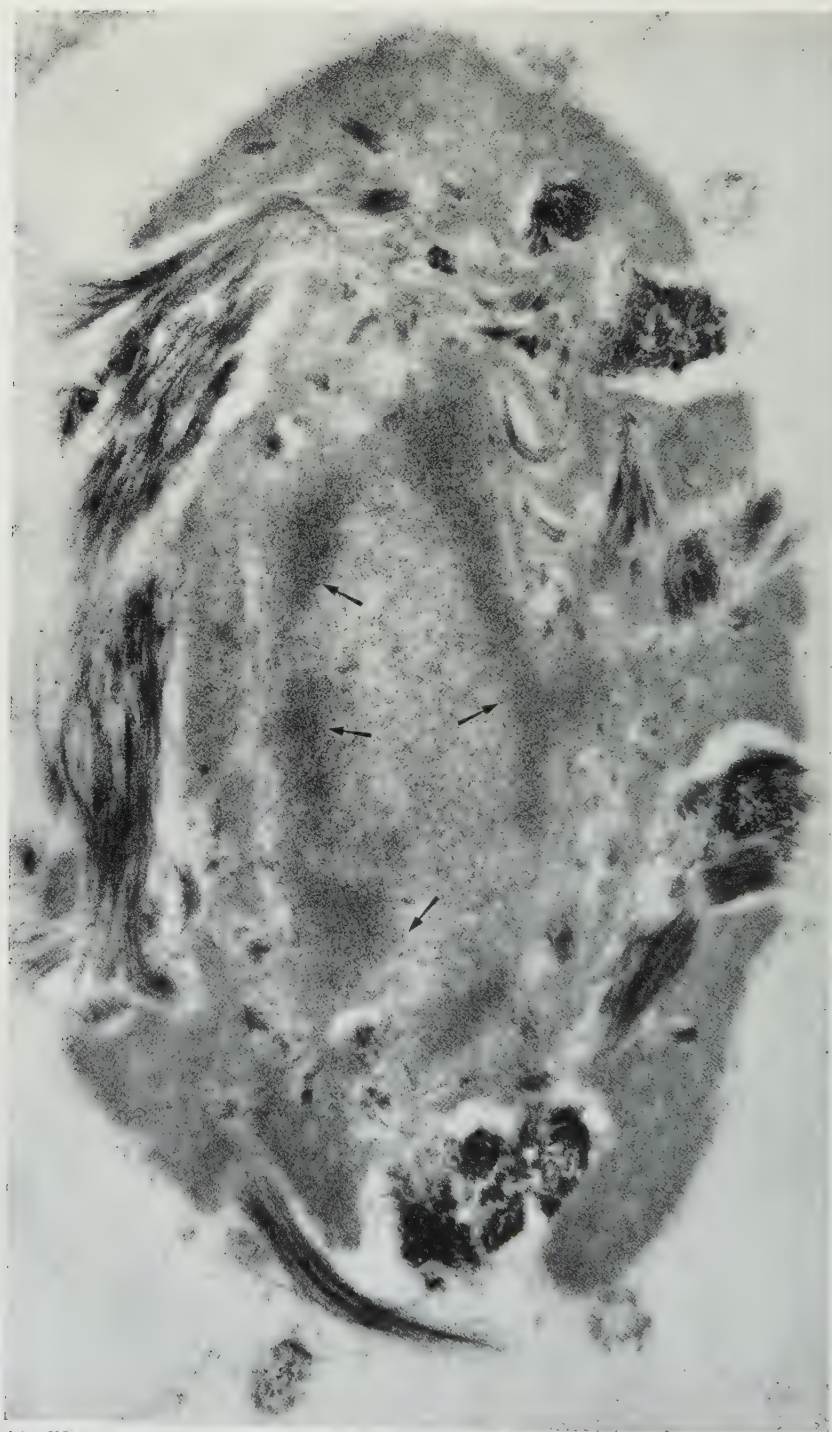


Abb. 18. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Kolloidkörper mit fibrillären Bestandteilen. Die Pfeile weisen auf Schichtstrukturen im Inneren. Elektronenmikroskopische Vergr. 10900 $\times$, Endvergr. 42000 $\times$, auf $\frac{1}{7}$ verkl.



Abb. 19. EKA 1 (sog. Hauptzellenadenom). Perikapillärer Raum (PVR). Die Pfeile weisen auf Defekte der subendothelialen Basalmembran (BMK). Die subepitheliale Basalmembran (BMe) ist überall sichtbar. E Endothel; Ep Epithelzelle; F Kollagenfibrillen; IZ interzellulärer Spaltraum; K Kapillarlumen. Elektronenmikroskopische Vergr. 7200 $\times$, Endvergr. 27 500 $\times$

teils ähneln. Die Schale der Einschlüsse besteht aus grobem elektronendichtem Material (Abb. 4).

Die Kapillaren. Unsere Beobachtungen am Endothel bestätigen im wesentlichen die Angaben von TRIER (1958). Die Dicke des Kapillarendothels, dessen kernhaltige Abschnitte weit vorspringen, wechselt erheblich. Große Teile des Endothelrohres bestehen aus einer nur $50\text{ m}\mu$ dicken, reichlich gefensterten Zytoplasmaschicht, wie sie auch für andere endokrine Organe bekannt ist. An ihren sog. Poren kann man fast stets ein ungefähr $50\text{ \AA}$ starkes Diaphragma erkennen. Abgesehen von zahlreichen kleinen Bläschen fallen in den Endothelzellen kleine Einschlüsse auf, deren massendichter Anteil in einem Falle eine periodische Feinstruktur aufweist (Periode etwa $220\text{ \AA}$).

2. Epithelkörperadenom EKA 2 (Trabekuläres Hauptzellenadenom)

a) Lichtmikroskopische Befunde. Bindegewebige Septen und Stränge gliedern das Gewebe in anastomosierende Epithelzellbalken, deren Oberfläche von Palisadenzellen gebildet wird. An einigen Stellen herrschen kleine Zysten vor (Abb. 20—21), deren epitheliale Wandung nicht selten stellenweise geschwunden ist. Kolloidhaltige Pseudofollikel sind ungleichmäßig über das Adenom verteilt. Infolge des Vorkommens kleiner Zysten und der stärkeren Ausbildung des Bindegewebsgerüsts erscheint es lockerer aufgebaut als das EKA 1.

Im Epithel überwiegen kleine helle Zellen und Übergangsformen zu den dunklen Elementen. Große dunkle Zellen, die als oxyphile Zellen imponieren, sind selten. Auffällig sind Mikroadenome, die praktisch ausschließlich aus kleineren dunklen Zellen bestehen; sie enthalten besonders viele, große kolloidhaltige Pseudofollikel.

Die *hellen Zellen* sind längliche Elemente mit einem großen Durchmesser von $10\text{--}13\text{ }\mu$ und einem kleinen von etwa $7,5\text{ }\mu$. Ihre runden Kerne mit mindestens einem, der Kernmembran anlagernden Nukleolus besitzen ein lockeres Chromatingerüst; dichter strukturierte Kerne sind selten. Die Kernschnittflächen berechnen sich zu $\bar{x} = 28$; $s = \pm 3,6$.

Nach den üblichen Fixierungen ist das färbbare Zytoplasma infolge Vakuolisierung und Ablagerung von Glykogen im zentralen Zellbereich auf eine schmale Randzone beschränkt. Die Zellgrenzen zeichnen sich als azidophiles Linienwerk deutlich ab. Nach Gefrieraustauschfixierung bietet sich ein etwas anderes Bild: die färbbaren Zytoplasmaanteile erscheinen nicht granulär, sondern homogen, bisweilen in Form eines feinen Netzwerkes (Artefakt durch Kristallbildung). Perinukleäre Aufhellungszonen können verschieden weit ausgedehnt sein, sind aber stets besser abgegrenzt als nach anderen Fixationen. Die Zellgrenzen treten indessen im Gefrieraustauschpräparat viel weniger stark in Erscheinung.

Der Glykogengehalt der hellen Zellen ist beträchtlich. Je nach Fixation ergeben sich große Unterschiede in der Verteilung und in der Menge des Glykogens. Nach Fixierung in Carnoyscher oder Rossmannscher Flüssigkeit finden sich mehr oder weniger grobe, bisweilen perinukleär angereicherte Glykogengranula. In den Palisadenzellen der Epithelzellbalken liegen sie oft auffällig zahlreich am Gefäßpol. Zellen mit großen glykogenfreien Vakuolen sind die Regel. Nach Gefrieraustauschfixierung dagegen tritt das Glykogen nicht granulär auf, sondern nimmt größere zusammenhängende Zellbezirke ein (Abb. 21); der Kern der

Palisadenzellen ist von einer schmalen Glykogenzone umgeben, während sich die Masse des Glykogens glockenförmig in den apikalen Zellteil erstreckt. Neben solchen kompakt erscheinenden Einlagerungen von Glykogen kommen kleinere Granula vor; außerdem tritt eine schwache, diffuse Anfärbung (PAS, diastaselabil) des Zytoplasmas hervor. Oft fallen kleine rundliche PAS-negative Bezirke auf, die inmitten der Glykogenansammlungen liegen oder in sie hineinragen; gänzlich fehlen dagegen die nach Carnoy- und Rossmann-Fixierung so zahlreichen großen glykogenfreien Vakuolen.

Die hellen Zellen enthalten einzelne, nicht selten auch mehrere kugelige Einschlüsse (Durchmesser bis zu $2\ \mu$) mit einer sudanophilen Membran.

Das *Ergastoplasma* ist sehr gut entwickelt. Häufig sind mehrere basophile Körper in einer Zelle vorhanden; sie liegen in der Regel im apikalen Zellbereich. Im einzelnen handelt es sich um rundliche, gleichmäßig angefarbte Areale von meist länglicher Gestalt, die bis zu $4\ \mu \times 1,5\ \mu$ messen können. Dieses nach Gefrier-austauschfixierung zu beobachtende Bild entspricht im wesentlichen den Befunden nach Carnoy-Fixierung. Nach Einwirkung der Carnoyschen Flüssigkeit erscheinen die basophilen Bezirke bizarrer geformt und ungleichmäßig gefärbt.

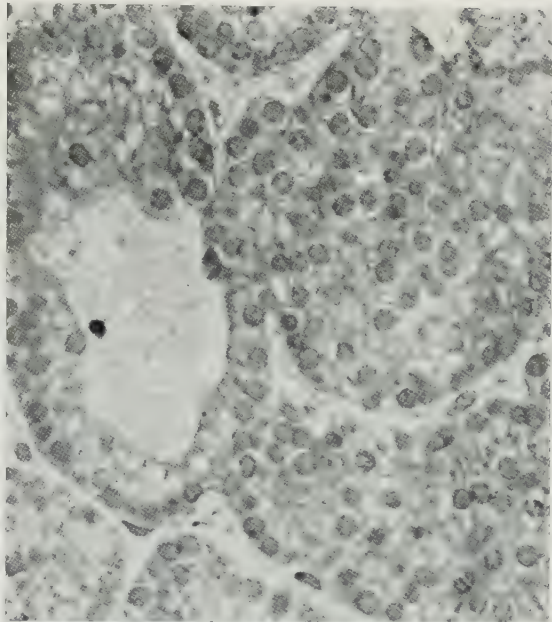


Abb.20

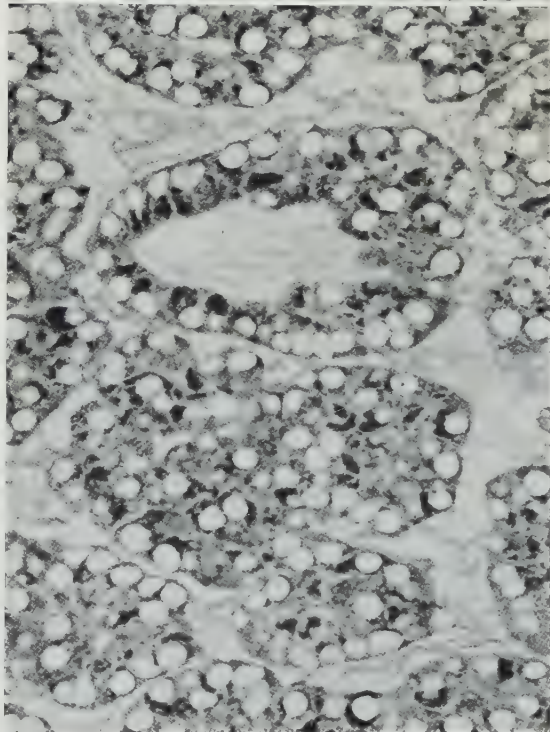


Abb.21

Abb. 20. EKA 2 (Hauptzellenadenom). Kleine helle Zellen und Übergangsformen. Beachte die optisch leeren Partien des Zellleibs. Gefrier-austausch nach PEYROT, GOLDNER, Vergr. 500fach

Abb. 21. EKA 2 (Hauptzellenadenom). Glykogendarstellung. Gefrier-austausch nach PEYROT, PAS, Vergr. 480fach

Große dunkle, d. h. gleichmäßig *granulierte Zellen* von unregelmäßiger Gestalt sind wesentlich seltener als im ersten Adenom (EKA 1). Ihr oft exzentrisch gelegener Kern enthält ein lockeres Chromatingerüst und einen bisweilen bemerkenswert großen Nukleolus. Diese Zellen treten im Sudanschwarz-Präparat stark hervor. Ihre Identifizierung im Gefrier austauschpräparat insbesondere mit histochemischen Reaktionen ist schwierig. Im PAS-Methylenblau (pH 4,2)-Simultanpräparat enthält ihr Zytoplasma kein Glykogen und nur wenig basophiles Material. Es sei bemerkt, daß die Methylenblaufärbung nach vorheriger Einwirkung von Perjodsäure (PAS-Reaktion) etwas anders ausfällt als ohne diese Vorbehandlung: die Färbung des Chromatins ist verstärkt, die der ergastoplasmatischen Strukturen abgeschwächt; Form und Verteilung der ergastoplasmatischen Strukturen scheinen dagegen nach der Vorbehandlung mit Perjodsäure unverändert zu sein.

Die *dunklen Zellen der Mikroadenome* messen durchschnittlich $8 \times 14 \mu$. Ihre Kerne unterscheiden sich nicht auffällig von denen der anderen Zellen. Die Kernschnittflächen berechnen sich zu $\bar{x} = 32$; $s = \pm 3,6$. Für 29 von 30 Kernen betrug $\bar{x}_1 = 31$; $s_1 = \pm 2,3$. Das Zytoplasma dieser dunklen Zellen enthält sehr wenig Glykogen (Carnoy-Fixierung). Basophiles Zytoplasma ist spärlich ausgebildet und nicht in allen Zellen vorhanden; es findet sich in ähnlicher Form und Verteilung wie in den kleinen dunklen Zellen des EKA 1: kleine, granuläre oder längliche basophile Körperchen liegen in der Peripherie der Zelle (Carnoy-Fixierung)

Im allgemeinen azidophile *Kolloidkugeln* von verschiedener Größe liegen im Inneren von Pseudofollikeln, eng von Epithelzellen umschlossen. Im Bereich der dunkelzelligen Mikroadenome sind sie besonders zahlreich und groß (Durchmesser bis zu 15μ). Nach Azanfärbung erscheinen die zentralen Partien der Kolloidkugeln rot, ihre äußeren Anteile blau gefärbt. Ihr histochemisches Verhalten wurde mit der PAS-Reaktion (mit und ohne Diastaseverdauung), mit der Ninhydrin-Schiff-Reaktion, mit dem Schiffschens Reagens allein und mit der Methylenblaufärbung bei verschiedenen pH-Werten geprüft. Die Ergebnisse sind die gleichen wie bei den Kolloidkörpern der EKA 1 (s. Tabelle auf S. 772).

Der *perikapilläre Raum* des EKA 2 unterscheidet sich nicht grundsätzlich von dem des EKA 1. Besonders im Gefrier austauschpräparat wird deutlich, daß er sich als intertrabekulärer Raum zwischen alle Epithelzellkomplexe erstreckt und die Kapillaren und die das Bindegewebsgerüst ausmachenden Kollagenfasern enthält (s. Abb. 20—21).

b) Elektronenmikroskopische Befunde. Die *helle Zelle* (Abb. 22) besitzt einen runden Kern, eine mäßige Anzahl von Mitochondrien, einen ausgedehnten Golgi-apparat und reichlich Ergastoplasma. Neben verschiedenen Einschlüssen fallen große strukturarme Bezirke ihres Zytoplasmas auf.

Die Zellgrenzen der hellen Zelle verlaufen im allgemeinen glatt; Verzahnungen der Zelloberflächen sind selten. Oft beobachtet man enge interzelluläre Räume, in die dicht stehende, stark gewundene, mikrovilliähnliche Zellfortsätze hineinragen (Abb. 24). Größere, optisch leere interzelluläre Spalträume fehlen (vgl. dagegen EKA 1, S. 775). Ausgedehnte Desmosomen sind an der Lichtung der Pseudofollikel zu finden.

Die *Mitochondrien* (Crista-Typus, Durchmesser $0,3\text{--}0,4\ \mu$; Länge bis zu $2,1\ \mu$) sind unregelmäßig im Zelleib verteilt. Gelegentlich ist ein Y-förmig gegabeltes Mitochondrium zu beobachten.

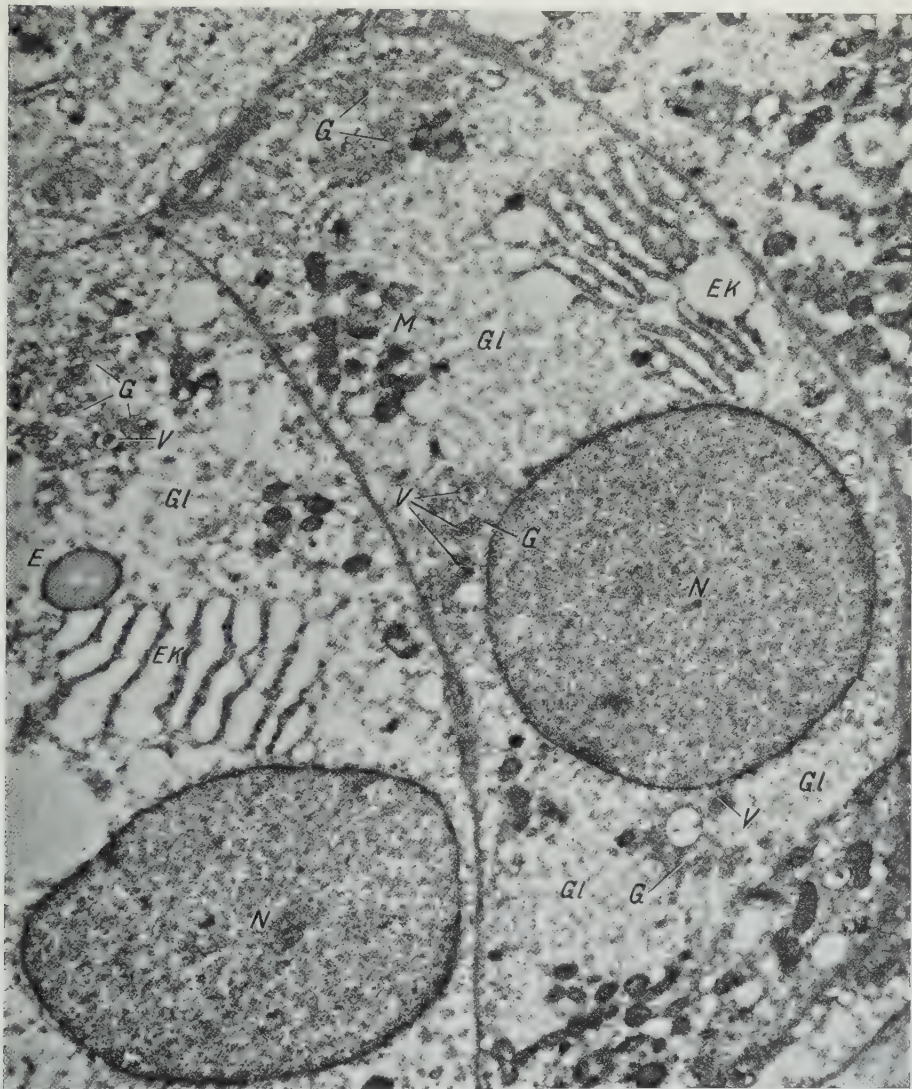


Abb. 22. EKA 2 (Hauptzellenadenom). Helle Zellen. E Großer kugelförmiger Einschuß; EK Ergastoplasmakomplex; G Golgikomplex; Gl Glykogenlager; M Mitochondrien; N Kern, V Vakuole mit bläschenförmigen Einschlüssen. Elektronenmikroskopische Vergr. $1500\times$, Endvergr. $6500\times$, auf $\frac{9}{10}$ verkl.

Ein typischer *Golgiapparat* läßt sich in der hellen Zelle des EKA 2 nicht ausmachen. Man findet aber verhältnismäßig scharf begrenzte Vakuolenkomplexe die Golgikomplexen zu entsprechen scheinen. Diese Komplexe, in denen selten einzelne, zwischen große Vakuolen eingeschobene Lamellenpaare vorkommen, liegen bald in den perinukleären, bald in den peripheren, basalen und apikalen Zellbereichen. Die auffälligsten Bestandteile dieser Komplexe sind große Bläschen

(Durchmesser bis zu $750\text{ m}\mu$), deren Membran bisweilen kleine Ausbuchtungen zeigt. In der Regel sind die großen Vakuolen von einer ungleichmäßig aus-

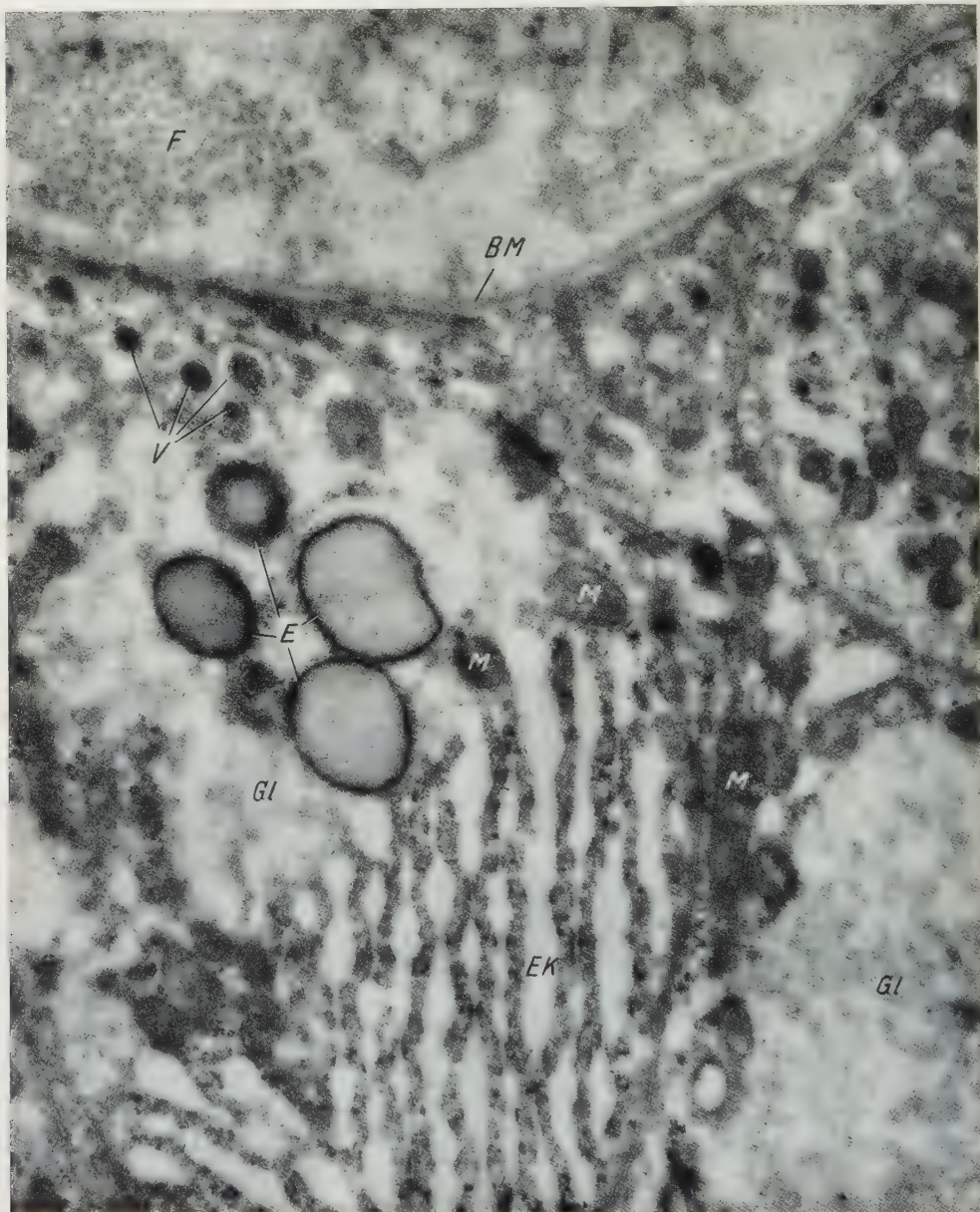


Abb. 23. EKA 2 (Hauptzellenadenom). Helle Zellen. *BM* Basalmembran; *E* Einschlüsse (s. S. 798); *EK* Ergastoplasmakomplex; *F* Kollagenfibrillen; *Gl* Glykogenlager; *M* Mitochondrien; *V* Vakuolen mit massendichten Einschlüssen. Elektronenmikroskopische Vergr. $5000\times$, Endvergr. $19000\times$, auf $\frac{1}{3}$ verkl.

gebildeten Lage kleiner rundlicher Profile (Durchmesser etwa $50\text{ m}\mu$) umgeben, die als Anschnitte von Bläschen und kurzen Kanälchen aufzufassen sind. Im Inneren vieler der großen Vakuolen finden sich außerdem kleine Bläschen (Durch-

messer etwa $50\text{ m}\mu$) in wechselnder Anzahl. In der Regel liegen sie etwa im Zentrum der großen Vakuolen, ohne deren Membran zu berühren. Einige der großen Vakuolen enthalten außer diesen Bläschen kleine elektronendichte Massen (Durchmesser $100\text{--}300\text{ m}\mu$).

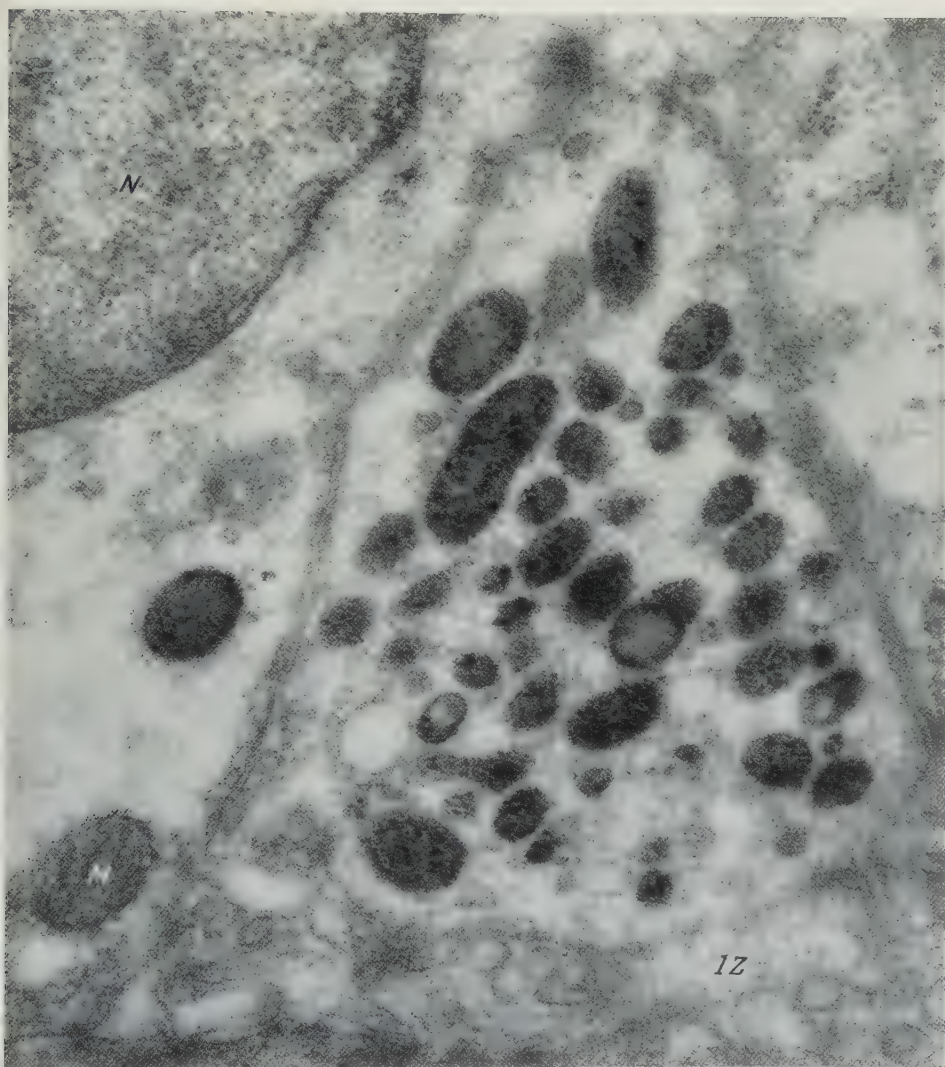


Abb. 24. EKA 2 (Hauptzellenadenom). Helle Zellen. Ansammlung von kleinen rundlichen Einschlüssen (s. S. 798). *IZ* Interzellulärer Spaltraum, in ihm Anschnitte von Zellfortsätzen; *M* Mitochondrium; *N* Kern. Elektronenmikroskopische Vergr. $10\,900\times$, Endvergr. $41\,500\times$, auf $\frac{9}{10}$ verkl.

Im Zytoplasma kommen außerhalb der dem Golgikomplex zuzurechnenden Vakuolen einzelne oder in Gruppen liegende große Bläschen (Durchmesser etwa $500\text{ m}\mu$), die fast ganz von einem runden massendichten Einschluß ausgefüllt werden, vor.

Die *Ergastoplasmakomplexe* (Abb. 22—23), von denen bisweilen 2 oder 3 innerhalb eines Zelleibes angeschnitten werden, bestehen aus parallel angeordneten,

flachen Säcken, die im Schnittbild eine Länge von bis zu 5μ und wechselnde Weite besitzen (meist $100\text{ m}\mu$; bis zu $500\text{ m}\mu$). Im Grundplasma zwischen den einzelnen Säcken liegen zahlreiche RNP-Granula. Bezeichnend für die helle Zelle des EKA 2 ist ihr Reichtum an verschiedenartigen *Einschlüssen*:

a) Große kugelige Einschlüsse (Durchmesser bis zu 2μ , Abb. 22 und 23) mit einer dünnen massendichten Schale und einem weniger dichten, bisweilen vakuolierten Inneren werden oft zu mehreren in einer Zelle beobachtet. Ihre Schale läßt keine Zusammensetzung aus distinkten Granula erkennen, im Gegensatz zu ähnlichen Einschlüssen in den Zellen des EKA 1 (s. S. 781). Wahrscheinlich entsprechen die kugeligen Gebilde den lichtmikroskopisch feststellbaren sudanophilen Bläschen.

b) Rundliche, verhältnismäßig massendichte Einschlüsse (Abb. 24), die kleine, besonders massendichte Körnchen (Durchmesser etwa $50\text{ \AA}$) in unregelmäßiger Verteilung enthalten, liegen in großer Anzahl am basalen Pol der Zelle. Mitunter zeigen einzelne Einschlüsse eine bläschenförmige zentrale Aufhellungszone; dann ist nicht zu entscheiden, ob sie vielleicht zu den unter a) beschriebenen Einschlüssen zu rechnen sind (Abb. 23). Man kann gedrungene (Durchmesser bis zu $460 \times 370\text{ m}\mu$) und langgestreckte (Durchmesser bis zu $1,5\mu \times 170\text{ m}\mu$), bisweilen auch gekrümmte oder gegabelte Einschlußformen unterscheiden.

c) Homogene, massendichte Einschlüsse mit unregelmäßiger Begrenzung, sog. Lipoidgranula, kommen wie im EKA 1 in geringer Zahl vor (vgl. S. 781).

Große Bezirke des Zytoplasmas der hellen Zellen sind strukturarm. Im Schnittbild weisen sie folgende Zeichnung auf: Zwischen verwaschen erscheinenden, vielfach verzweigten Strängen (Durchmesser etwa $60\text{ m}\mu$) befindet sich ein System etwa $150\text{ m}\mu$ breiter Straßen, die verglichen mit den Lumina der Ergastoplasma- und Golgikomplexe eine sehr geringe Dichte aufweisen. Die strukturarmen, perinukleär und apikal gelegenen Bezirke entsprechen den lichtmikroskopisch nachweisbaren *Glykogenmassen* (vgl. S. 792).

Ein ungefähr $100\text{ m}\mu$ dicker Zytoplasmasaum an der vaskulären, häufig auch an der interzellulären Oberfläche der Epithelzellen ist reich an kleinen Bläschen (Durchmesser meist $40\text{--}50\text{ m}\mu$). Gelegentlich kann man in diesen oberflächennahen Bereichen kleine Einsenkungen des Plasmalemmas beobachten, die an eine Pinozytose denken lassen.

Die mitochondrienreichen Zellen. Gelegentlich stößt man auf Anschnitte mitochondrienreicher Zellen, deren Natur (kleine dunkle oder oxyphile Zellen?) fraglich ist. Die Mitochondrien dieser Elemente sind plump (Durchmesser etwa $500\text{ m}\mu$ und darüber). Eine Zelle mit besonders dicken Mitochondrien (Durchmesser $900\text{ m}\mu$) enthielt spiralig orientierte Cristae mitochondrales, ähnlich denen in der oxyphilen Zelle des EKA 1 (s. S. 784). Man findet ferner Anschnitte von typischen Golgikomplexen und von Ergastoplasmakomplexen aus 4—5 parallel zueinander angeordneten Säcken (Weite etwa $200\text{ m}\mu$; Länge bis zu $1,7\mu$). Außerdem kann man im Gefäßpol der Zellen Ansammlungen kleiner rundlicher, massendichter Einschlüsse (vgl. S. 798) feststellen. Große kugelige Einschlüsse (s. S. 798) und strukturarme Bezirke scheinen dagegen in den mitochondrienreichen Zellen zu fehlen.

Die *Kolloideinschlüsse* der Pseudofollikel (Abb. 26) weichen in ihrem Feinbau von denjenigen des EKA 1 ab. Man kann an ihnen eine innere kompakte Zone

von einer äußeren, faserig strukturierten unterscheiden. Die innere Zone erscheint strukturlos, wenn auch nicht gleichmäßig massendicht. In ihren äußeren Bereichen kann man in manchen Fällen dichtere, im Schnittbild längliche Massen

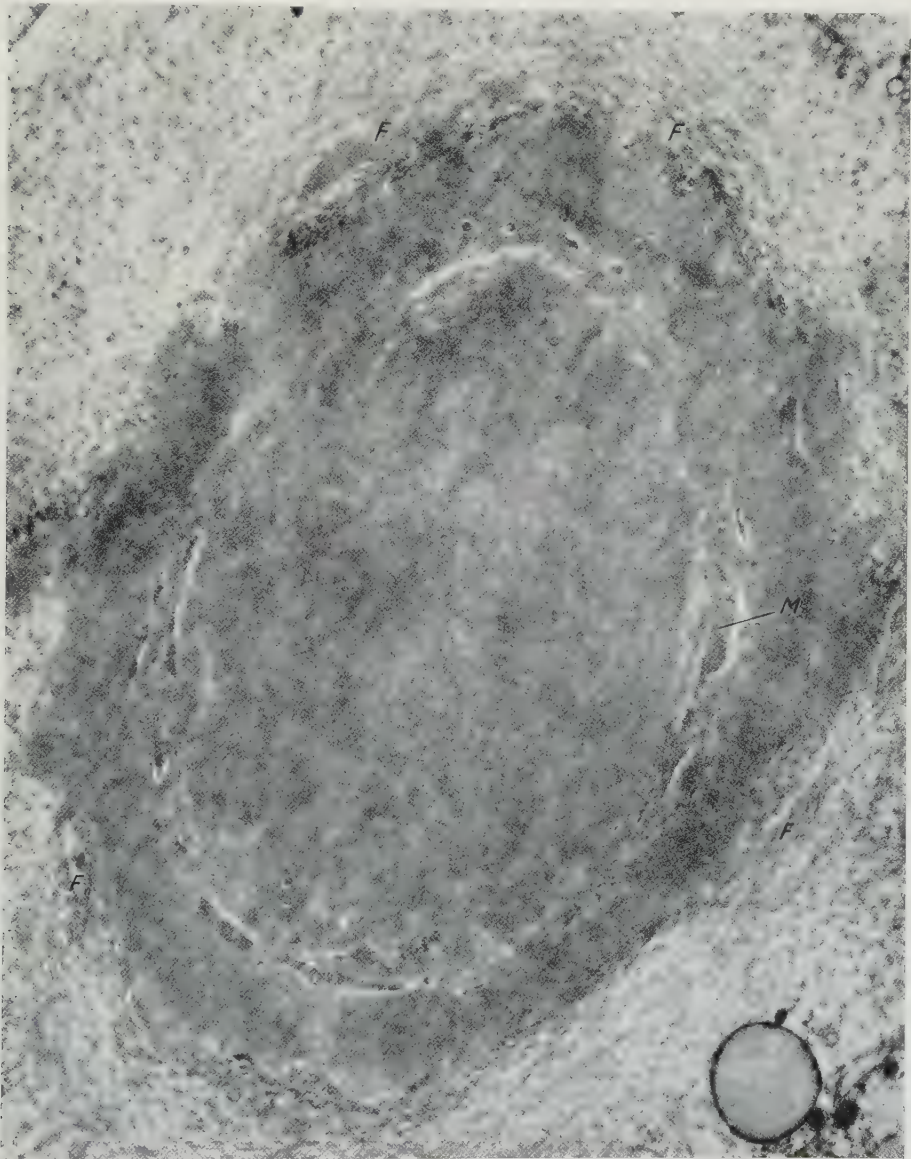


Abb. 25. EKA 2 (Hauptzellenadenom). Kolloidkörper. Erklärung im Text (s. S. 799).
Elektronenmikroskopische Vergr. 4000 $\times$, Endvergr. 12000 $\times$, auf $\frac{7}{10}$ verkl.

beobachten; sie setzen sich durch einen schmalen, optisch leeren Spalt von der übrigen Masse des Einschlusses ab (Abb. 25, *M*). Der Übergang des kompakten Inneren der Einschlüsse in die faserige Außenzone ist unscharf. Die etwa 50 Å dicken Fäserchen, die die Außenzone bilden, verlaufen in verschiedenen Richtungen (Abb. 25, *F*). Sie erreichen die Oberfläche der Epithelzellen, die wie beim

EKA 1 (s. S. 786), wenn auch spärlicher, mit Mikrovilli (Durchmesser $130\text{ }\mu$) besetzt ist.

Anschnitte des *perikapillären* (oder *intertrabekulären*) *Raumes* zeigen häufig nur Bündel von etwa $50\text{ }\mu$ dicken Fibrillen. Im übrigen entspricht die Bauweise des *perikapillären* Raumes (subendotheliale und subepitheliale Basalmembran, „fibroblastoide“ Zellen) den bisher mitgeteilten Befunden.

3. Epithelkörperchenadenom EKA 3 (Hauptzellenadenom)

a) Lichtmikroskopische Befunde. Der von uns untersuchte Teil des EKA 3 enthält als einziger aus unserem Adenommaterial einen Komplex anscheinend *normalen Epithelkörperchengewebes* (Abb. 26). Er liegt am Rande des eigentlichen Adenoms und enthält sehr viele univakuoläre Fettzellen und ein ausgedehntes Bindegewebsgerüst, durch welches die Epithelzellinseln — hauptsächlich kleine helle Zellen, daneben Übergangsformen zu dunklen Zellen und einzelne dunkle oxyphile Zellen — oft weit voneinander getrennt sind. Da sich derartige Epithelkörperchengewebe nur in dem Bouin-fixierten Stück fand, lassen sich seine Zellen nur grob lichtmikroskopisch charakterisieren: Die kleinen hellen Zellen (Durchmesser etwa $6,5\text{ }\mu$ bzw. $10\text{ }\mu$) zeichnen sich durch ein optisch leeres Zytoplasma aus. Ihre bläschenförmigen, locker strukturierten Kerne enthalten meistens 2 scharf begrenzte, membranständige Nukleolen. Die Kernschnittflächen (30 Kerne, Bouin) berechnen sich zu $\bar{x}_B = 29$, $s_B = \pm 1,8$. Die anderen, wesentlich selteneren Zelltypen des Komplexes unterscheiden sich hauptsächlich durch die Färbbarkeit des Zytoplasmas (granulärer Zytoplasmasaum an der Zellgrenze bei den Übergangsformen; vollständig granuliertes Zytoplasma bei den dunklen oxyphilen Zellen) von den hellen Elementen.

Das Strukturbild des eigentlichen Adenoms wird weitgehend von *Follikeln* beherrscht, deren Wand aus hohen Palisadenzellen besteht (Abb. 26). Die meist enge Lichtung der Follikel enthält oft schwach azidophiles Gerinnsel. Zwischen den Follikeln erstreckt sich ein meist sehr enger *perikapillärer* (oder *interfollikulärer*) Raum mit zahlreichen Kapillaren und Kollagenfasern.

Die Epithelzellen des *Adenomgewebes* gehören fast ausschließlich zur Gruppe der großen wasserhellen Elemente. Einzelne große dunkle Zellen sind äußerst selten; sie liegen als langgestreckte Elemente im basalen Teil der Follikelwandung.

Die großen hellen Palisadenzellen erreichen oft eine Höhe von $20\text{ }\mu$ bei einer Breite von $7\text{ }\mu$ an der Basis. Die Form ihrer Zellkerne wechselt. Runde Kerne mit zartem Chromatingerüst, mitunter etwas gewellter Membran und einem unscharf begrenzten, nicht membranständigen Nukleolus überwiegen. Daneben finden sich ähnlich strukturierte Riesenkerne und hyperchromatische Kerne mit runzeliger Membran. Zwei- und dreikernige Zellen sind nicht selten. Die Kernschnittflächen berechnen sich zu $\bar{x} = 27$, $s = \pm 6,9$, für 28 von 30 Kernen zu $\bar{x}_1 = 26$, $s_1 = \pm 3,9$. Die hyperchromatischen Kerne liegen im unteren Bereich der Variationsbreite dieser Hauptgruppe. Nach Bouin-Fixierung erhält man für 30 Kerne die Werte $\bar{x}_B = 31$, $s_B = \pm 4,7$, bzw. für 28 von 30 Kernen $\bar{x}_{B1} = 30$, $s_{B1} = \pm 3$.

Die großen hellen Adenomzellen sind außerordentlich reich an *Glykogen* (Gefrieraustauschfixierung), das hauptsächlich den Zellapex in Form von großen Schollen erfüllt (Abb. 27). Den Kern umgeben Granula und kleinere Schollen.

Die zwischen den größeren Glykogenpartikeln liegenden spalten- und buchtenförmigen Zytoplasmabezirke geben eine schwach positive Glykogenreaktion. Keine Glykogenreaktion geben nur die Kerne und ein den Zellgrenzen entsprechendes Spaltenwerk. Nach Carnoy-Fixierung dagegen lassen spärliche, über die Zelle verteilte Granula noch nicht einmal die Lage des Kernes vermuten, die sich nach Gefrier austauschfixierung durch ein scharf begrenztes Negativbild des Nukleus verrät.

Im mit Sudan gefärbten Formol-Gefrierschnitt fallen in allen Zellen wenige kleine runde *Granula* auf; sie liegen meistens in Kernnähe, selten im apikalen Zellbereich. Umfangreichere sudanophile intrazelluläre Tropfen, die in seltenen Fällen Kerngröße erreichen, sind in manchen Bezirken des Adenoms regelmäßig zu finden; sie liegen je nach Größe in Ein- oder Mehrzahl der apikalen Seite des Zellkerns an.

Basophile zytoplasmatische Bezirke sind nicht in allen großen hellen Zellen vorhanden. Sie sind bald lang und schmal, bald gedrunken und sitzen dem Kern an der apikalen Seite perückenartig auf; in anderen Fällen befinden sie sich vom Kern abgerückt im apikalen Zellabschnitt.

b) Elektronenmikroskopische Befunde. Elektronenmikroskopisch gelang allein die Beobachtung der großen

hellen Adenomzelle (Abb. 28—30). Dieses Element zeichnet sich durch mäßigen Mitochondriengehalt, durch einen Golgiapparat von starker und durch Ergastoplasma von geringer Ausdehnung aus. Wie bei den hellen Zellen des EKA 2 (s. S. 798) sind große verwaschen strukturierte Teile des Zytoplasmas frei von Organellen.

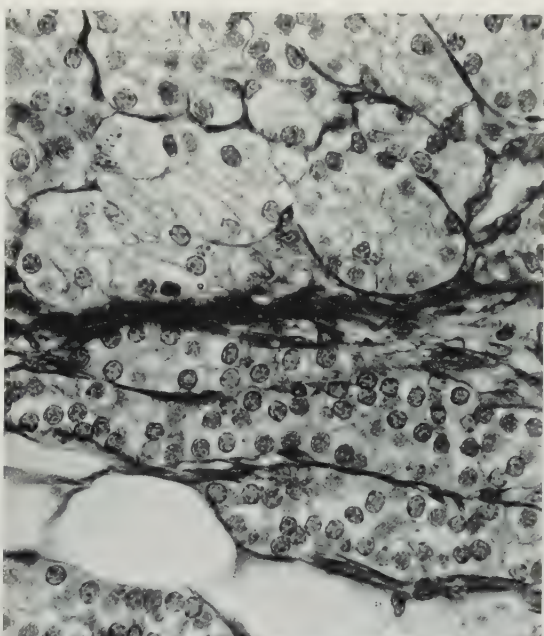


Abb. 26

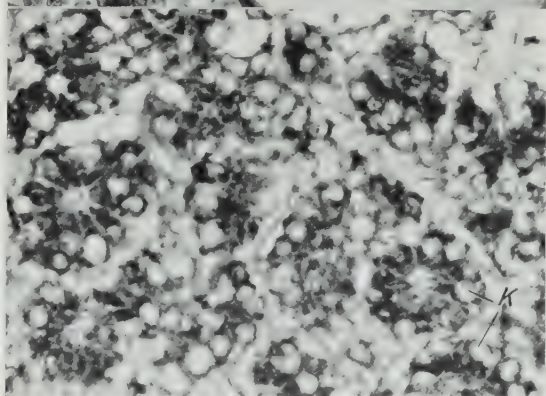


Abb. 27

Abb. 26. EKA 3 (Hauptzellenadenom). Übersicht. Unten kleine „normale“ Epithelkörperzellen und Fettzellen, oben große, in Follikeln angeordnete Adenomzellen. BOUIN, Azan, Vergr. 480fach

Abb. 27. EKA 3 (Hauptzellenadenom). Glykogendarstellung. In den günstig angeschnittenen Follikeln erkennt man die basale Lage der Kerne (K: nicht gefärbt), die apikale der Glykogenmassen. Beachte den weiten perikapillären Raum zwischen den Follikeln. Gefrier austausch nach PEYROT, PAS, Vergr. 540fach

Die Plasmalemmata der großen hellen Zellen sind allenthalben sehr scharf gezeichnet (Abb. 28). Die Zellen sind stellenweise miteinander verzahnt und lassen verschieden große interzelluläre Spalträume zwischen sich. Im Inneren

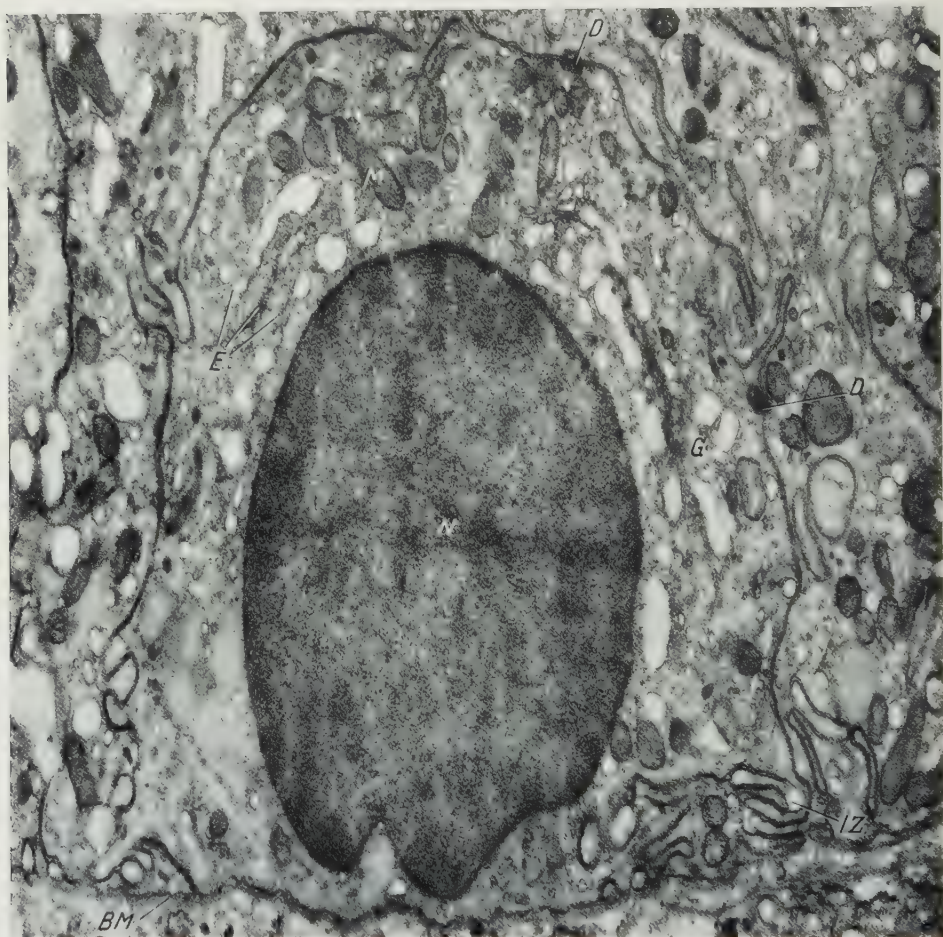


Abb. 28. EKA 3 (Hauptzellenadenom). Schnitt durch den basalen Teil einer großen hellen Adenomzelle. Beachte den gewundenen Verlauf der Zellgrenzen. *BM* Basalmembran; *D* Desmosom; *E* Ergastoplasma; *G* Golgi-komplex; *IZ* interzellulärer Raum; *M* Mitochondrien; *N* Kern.
Elektronenmikroskopische Vergr. 5300 $\times$, Endvergr. 20 500 $\times$, auf $\frac{3}{4}$ verkl.

der Gewebstückchen sind diese interzellulären Räume bei guter Erhaltung der sie begrenzenden Zellen besonders weit (mehrere μ). An den interzellulären Zellgrenzen findet man Desmosomen; ausgedehnte Haftplatten sind nahe der Follikelrichtung zu beobachten. Die Zelloberfläche, die zur Follikelrichtung gehört, trägt zahlreiche Mikrovilli (Durchmesser 150 m μ ; Länge etwa 1 μ).

Kerne und Zytoplasma erscheinen dichter als in den nur mit Osmiumtetroxyd fixierten Gewebstückchen der Adenome EKA 1 und 2. Wesentlich deutlicher ist hier die Doppelmembran des Kernes gezeichnet, die bisweilen von Poren durchbrochen wird. Unter den Nukleolusanschnitten findet man die gleichen Formen wie in der dunklen Zelle des EKA 1.

Die *Mitochondrien* der großen hellen Zellen liegen außerhalb der strukturarmen Bezirke (s. S. 806) anscheinend regellos im Zytoplasma verteilt. Sie gehören dem Crista-Typus an, sind länglich, bisweilen auch Y-förmig gegabelt.

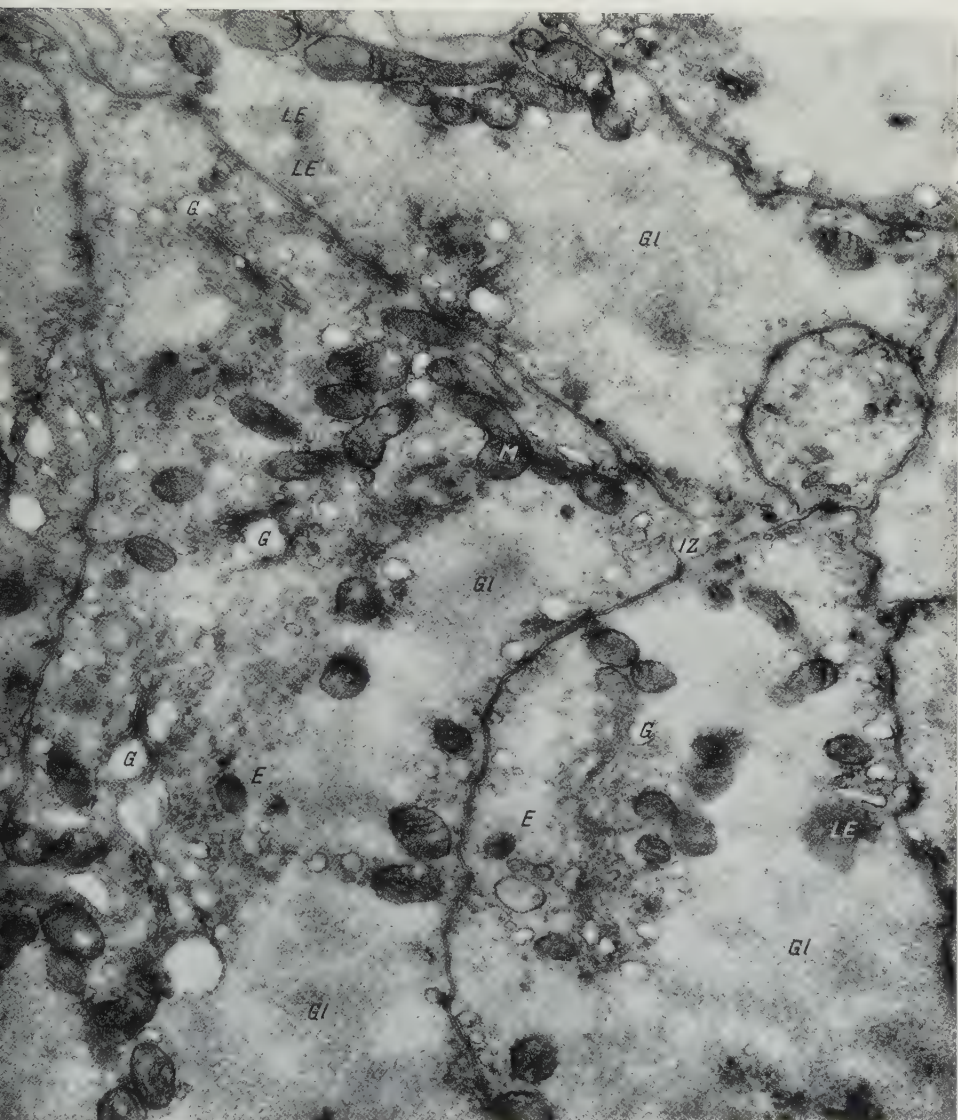


Abb. 29. EKA 3 (Hauptzellenadenom). Schnitt durch apikale Teile großer heller Adenomzellen. E Einschuß [s. S. 805 unter (b)]; G Golgikomplex; Gl Glykogenlager; IZ interzellulärer Raum; LE Lipoeinschuß (s. S. 806); M Mitochondrium. Elektronenmikroskopische Vergr. 7200 $\times$, Endvergr. 27 500 $\times$, auf $\frac{2}{3}$ verkl.

Die Anordnung der Cristae ist unregelmäßig; quer-, längs- und schräggestellte Cristae kommen bisweilen in ein- und demselben Mitochondrium vor.

Die große helle Zelle enthält zahlreiche *Golgikomplexe* (Abb. 28 und 29). Sie liegen — anscheinend ohne Beziehung zur polaren Organisation dieser Zelle —



Abb. 30. EKA 3 (Hauptzellenadenom). Große helle Adenomzelle. *E* Ergastoplasma; *Gl* Glykogenlager; *M* Mitochondrium; *N* Kern. Elektronenmikroskopische Vergr. 7200 $\times$, Endvergr. 27 500 $\times$, auf $\frac{6}{8}$ verkl.

an der Kernmembran, am Plasmalemm sowie an den Enden der ergastoplasmatischen Komplexe und bestehen aus typischen Doppellamellenstapeln (Länge etwa 1μ), deren Räume bisweilen zu Vakuolen (Weite bis zu $0,5\mu$) erweitert sind. Außerdem gehören zur Golgiregion sehr zahlreiche Anschnitte von Hohlgebilden (Durchmesser $25-60\text{ m}\mu$). Ansammlungen solcher, wahrscheinlich von Kanälchen herrührenden Profile reichen häufig fast bis an das Plasmalemm. Bisweilen finden sich diese kleinen Profile dicht um größere Vakuolenanschnitte herum angeordnet. Gelegentlich stößt man in der Golgiregion auf ein *Zentriol*. Seine Abmessungen stimmen mit denen bei der Beschreibung des EKA 1 mitgeteilten im wesentlichen überein (vgl. S. 781). Jedoch bemerkt man in Ergänzung der dort mitgeteilten Befunde, daß der innere, optisch fast leere Zylinder des Zentriols gegen den die Fibrillen enthaltenden massendichten Mantel durch eine feine Membran abgegrenzt ist.

*Ergastoplasma*komplexe aus bis zu 8 abgeplatteten Säcken (Länge etwa 4μ) liegen häufig perinukleär, indem sie dem Kern wie eine Kappe aufsitzen (Abb. 30). Diese perinukleären Komplexe sind sehr gleichmäßig aufgebaut; ihre Membranen schließen ein sehr schmales Lumen von etwa $20\text{ m}\mu$ Weite ein; zwischen den einzelnen Säcken liegen etwa $200\text{ m}\mu$ starke, an RNP-Granula reiche

Grundplasmaplatten. Kernferne Ergastoplasma Komplexe zeichnen sich durch ungleichmäßigere Lumina aus. Bei beiden Arten von Ergastoplasma Komplexen lassen sich bisweilen Verbindungen zwischen den einzelnen Säcken erkennen.

Die große helle Zelle enthält verschieden strukturierte *Einschlüsse*, die denjenigen in den kleinen hellen Zellen des EKA 2 und in den Zellen des EKA 1 ähneln:

a) Sehr selten sind kugelige Einschlüsse (Durchmesser bis zu $0,7\mu$) mit einer dünnen, massendichten Schale und einem homogen erscheinenden, viel weniger dichten Inhalt [vgl. EKA 1, S. 781; EKA 2, S. 798 unter (a)].

b) Zahlreich kommen dagegen — hauptsächlich in der Golgiregion — rundliche Einschlüsse (Größe bis zu $730 \times 180\text{ m}\mu$) (Abb. 29, E) vor, die aus einer

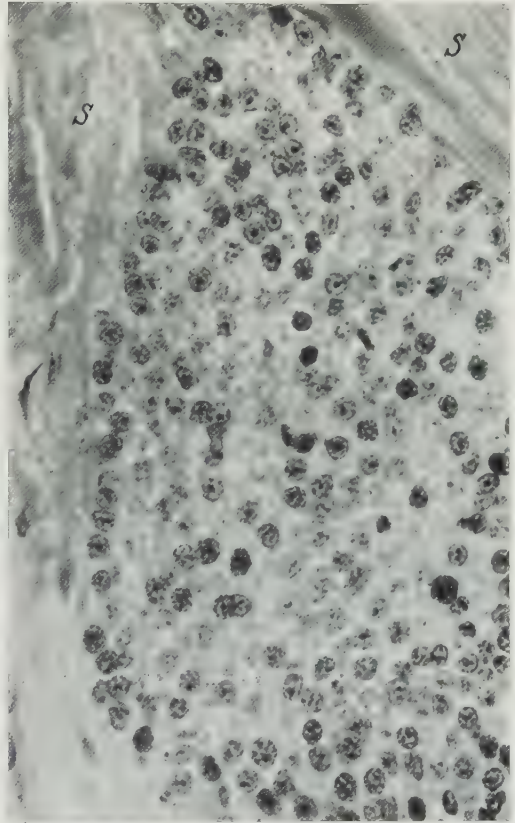


Abb. 31. EKA 4 (Hauptzellenadenom mit regressiven Veränderungen). Übersicht. Beachte die verschiedene Struktur und Färbbarkeit der Kerne. S Septum. Giaccio, Eisenhämatoxylin, Vergr. 480fach

homogen erscheinenden, relativ dichten Masse bestehen [vgl. EKA 1, S. 781; EKA 2, S. 798 unter (b)].

c) Schließlich findet man häufig sog. Lipoidgranula (Abb. 29, *LE*), die in der großen hellen Zelle in der Regel einen Durchmesser von $0,75\ \mu$ besitzen und sich durch geringere Massendichte von ähnlichen Einschlüssen des EKA 1 (vgl. S. 781) und des EKA 2 [vgl. S. 798 unter (c)] unterscheiden.

Die regelmäßig unmittelbar an die äußere Kernmembran angrenzenden strukturarmen Bezirke (Abb. 30) imponieren als wahrhaft *paraplasmat*ische Felder. Auf Grund ihrer großen Ausdehnung und ihrer engen Lagebeziehung zum Kern können ihnen nach Maßgabe der lichtmikroskopischen Befunde nur die Glykogenschollen entsprechen. Ihre verwaschene Struktur läßt ein Netzwerk aus unscharf begrenzten, relativ massendichten Strängen (Durchmesser etwa $20\ m\mu$) erkennen, zwischen denen weniger dichte, unregelmäßig geformte Bezirke (Durchmesser etwa $50\ m\mu$) liegen.

Ein schmaler, an das Plasmalemm angrenzender Randbezirk der Zelle ist reich an verschieden gestalteten Profilen (Durchmesser $30\text{--}200\ m\mu$) (Abb. 29), die wahrscheinlich von einem besonders entwickelten endoplasmatischen Retikulum herrühren. Im Einzelfall lassen sich diese Hohlstrukturen mitunter von Golgikanälchen nicht unterscheiden.

4. Epithelkörperadenom EKA 4 (Hauptzellenadenom mit regressiven Veränderungen)

a) **Lichtmikroskopische Befunde.** Dieses Epithelkörperadenom wird durch auffällig starke Septen in Läppchen verschiedener Größe unterteilt, die aus dicht gelagerten Epithelzellen bestehen (Abb. 31). Häufig beobachtet man im Läppchenzentrum Anzeichen eines Gewebsuntergangs; die hier befindlichen Zellen und ihre Kerne sind geschrumpft und erscheinen stark verdichtet. Zwischen den Zellen liegen oft große Spalträume und offenbar verschlossene Kapillaren.

Das Bild des Epithels ist eintönig: seine Elemente sind durchweg klein (etwa $10 \times 7,5\ \mu$), ihr verhältnismäßig großer Kern wird von einem hellen Hof umgeben. Die Kerne bieten ein äußerst unterschiedliches Bild, das sich am besten im mit Eisenhämatoxylin gefärbten Ciaccio-Präparat (Abb. 31) studieren läßt. Man beobachtet

1. ovoide Kerne, die teils ein lockeres Chromatingerüst und einen stark hervortretenden Nukleolus enthalten, teils eine grobgranuläre Struktur besitzen. Schnittflächenberechnungen an Kernen dieser Gruppe ergaben $\bar{x} = 34$; $s = \pm 6,1$;

2. tief eingebuchtete Kerne, die häufig die erwähnte grobgranuläre Struktur aufweisen;

3. unregelmäßig gestaltete Riesenkerne mit lockerem Chromatingerüst;

4. große, außerordentlich schwach anfärbbare Kerne mit gewellter Oberfläche;

5. durch optisch leere Vakuolen stark aufgetriebene Kerne mit randständigem Chromatinrest. Einen derartigen Kern konnten wir über 4 Serienschnitte (Dicke $5\ \mu$) verfolgen.

Der *Glykogengehalt* der Zellen ist gering und ungleichmäßig. Vielfach läßt sich mit der PAS-Reaktion nicht einmal eine schwache diffuse Anfärbung des Zelleibes erzielen (Abb. 32). Dagegen enthalten manche Epithelzellen, vor allem die den kräftigen Septen benachbarten, beträchtliche Glykogenmengen in Form einer mehr oder weniger vollständigen perinukleären Schale. Diese Befunde

lassen sich an dem gesamten Gefrieraustauschmaterial (nach PEYROT 1956, Methanol, Azeton) erheben.

Nach Färbung fomolfixierter Gefrierschnitte mit Sudanschwarz oder Sudan III erscheint das Zytoplasma schwach tingiert. Kräftig sudanophile *Granula*, die gewöhnlich dünner als 1μ sind, sind selten anzutreffen. Gehäuft fanden wir solche Körnchen, unter ihnen auch solche bis zu 5μ Dicke, in einem umschriebenen Bezirk innerhalb des mit Formol fixierten Materials; dort liegen sie in der Basis der Zellen. Im mit Sudan gefärbten Ciaccio-Präparat fallen einzelne blasse

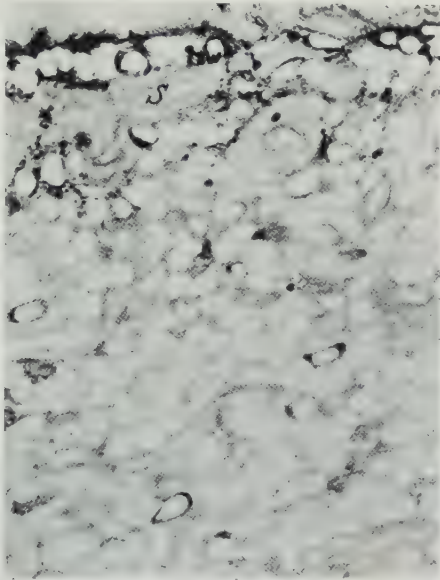


Abb. 32

Abb. 32. EKA 4 (Hauptzellenadenom mit regressiven Veränderungen). Glykogendarstellung. Beachte den Glykogenreichtum der Epithelzellen am Septum (S). Gefrieraustausch nach PEYROT, PAS, Vergr. 480fach

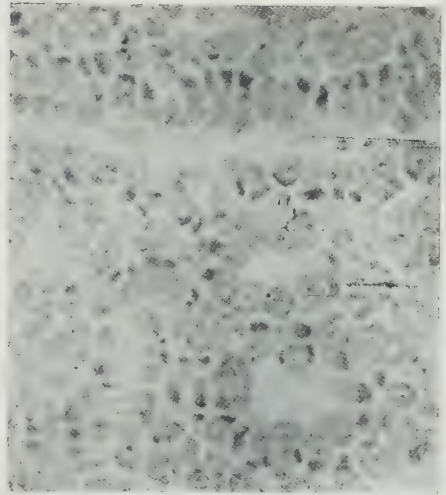


Abb. 33

Abb. 33. EKA 4 (Hauptzellenadenom mit regressiven Veränderungen). Ergastoplasmadarstellung. Beachte die Größe und meist apikale Lage der basophilen Körper. Gefrieraustausch mit Methanol, Methylenblau pH 4,2, Vergr. 480fach

Korpuskel auf, die möglicherweise den mittelgroßen sudanophilen Einschlüssen des fomolfixierten Materials entsprechen. Sehr vereinzelt vorkommende, leicht vergrößerte Zellen (Formolgefrierschnitt, Ciaccio-Fixierung) erinnern infolge der sudanophilen Granulierung des gesamten Zytoplasmas an oxyphile Elemente.

Das sehr stark entwickelte *Ergastoplasma* der Zellen des EKA 4 (Abb. 33) tritt in den Palisadenzellen (an den Gefäßen) als apikal gelegener juxtanukleärer Körper (Durchmesser bis zu 5μ) auf. In den nicht polar organisierten Zellen erscheint es als Kernhaube, deren Schnittbild sichelförmigen Umriß aufweist. Häufig kann man innerhalb der basophilen Körper vereinzelt feine, nicht-basophile Bläschen beobachten. Diese am Methanol-Gefrieraustausch-Präparat gewonnenen Befunde unterscheiden sich von den Ergebnissen nach Carnoy-Fixierung in der schon für das EKA 2 (vgl. S. 793) beschriebenen Weise.

Kleine kolloidhaltige Follikel sind in diesem Adenom außerordentlich selten.

b) Elektronenmikroskopische Befunde. Die Zellen des EKA 4 zeichnen sich durch eine variable Kernstruktur und hochdifferenziertes Ergastoplasma aus.

Außer einer mäßigen Anzahl von Mitochondrien enthalten sie einen ausgedehnten Golgiapparat.

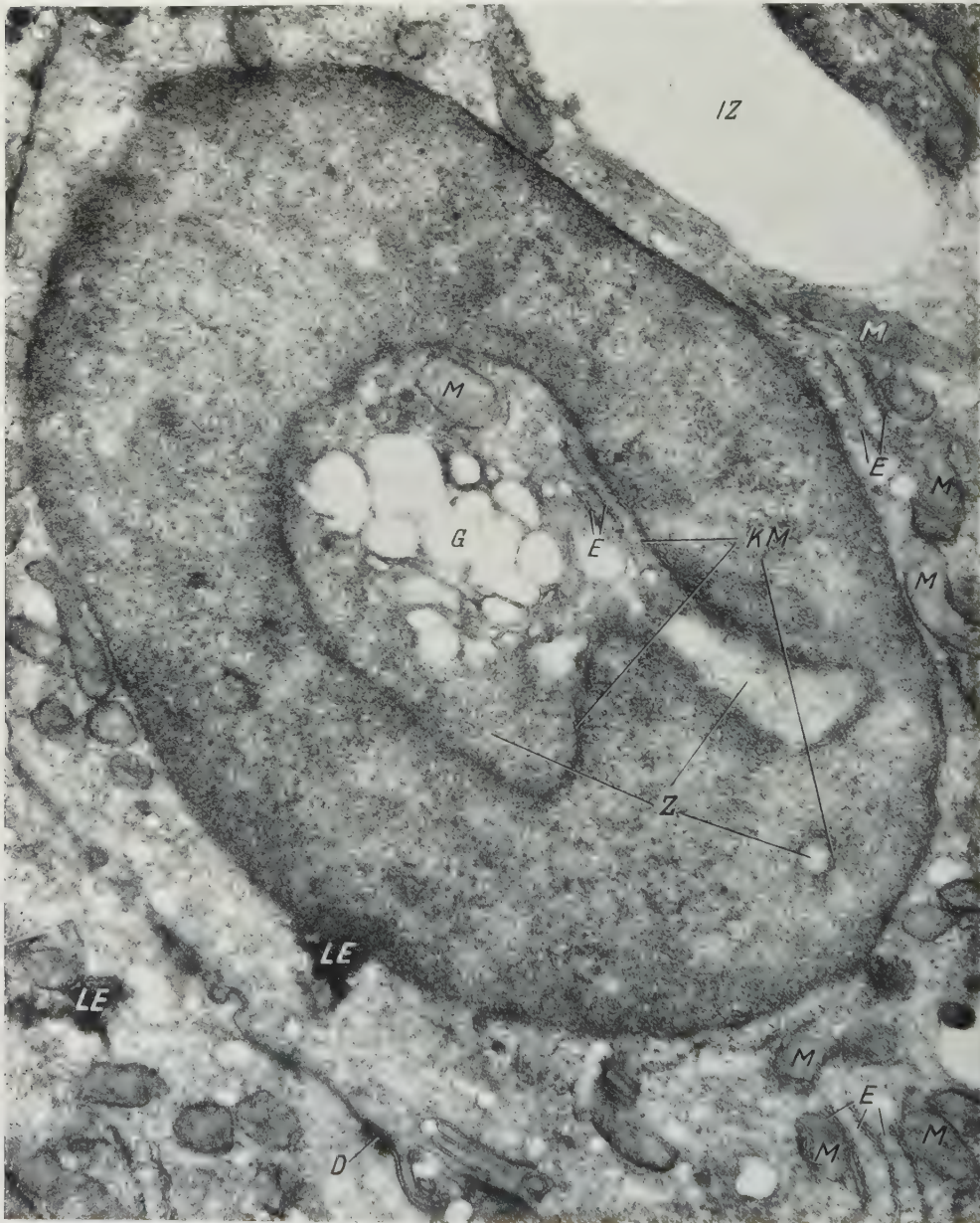


Abb. 34. EKA 4 (Hauptzellenadenom mit regressiven Veränderungen). Kern mit invaginiertem Zytoplasma (Z). D Desmosom; E Ergastoplasma; G Golgikomplex; IZ interzellulärer Raum; KM Kernmembran; LE Lipoideneinschluß; M Mitochondrium. Elektronenmikroskopische Vergr. 5300 $\times$, Endvergr. 20 000 $\times$, auf $\frac{9}{10}$ verkl.

Die Epithelzellen sind reich an Desmosomen verschiedener Größe (170 bis 300 $m\mu$). Schmale interzelluläre Räume sind regelmäßig vorhanden; häufig

ragen Mikrovilli (Durchmesser 50—150 $m\mu$) in sie hinein. Bisweilen liegen in den Interzellularräumen amorphe Massen (Durchmesser etwa 750 $m\mu$) mit unscharfer Begrenzung.

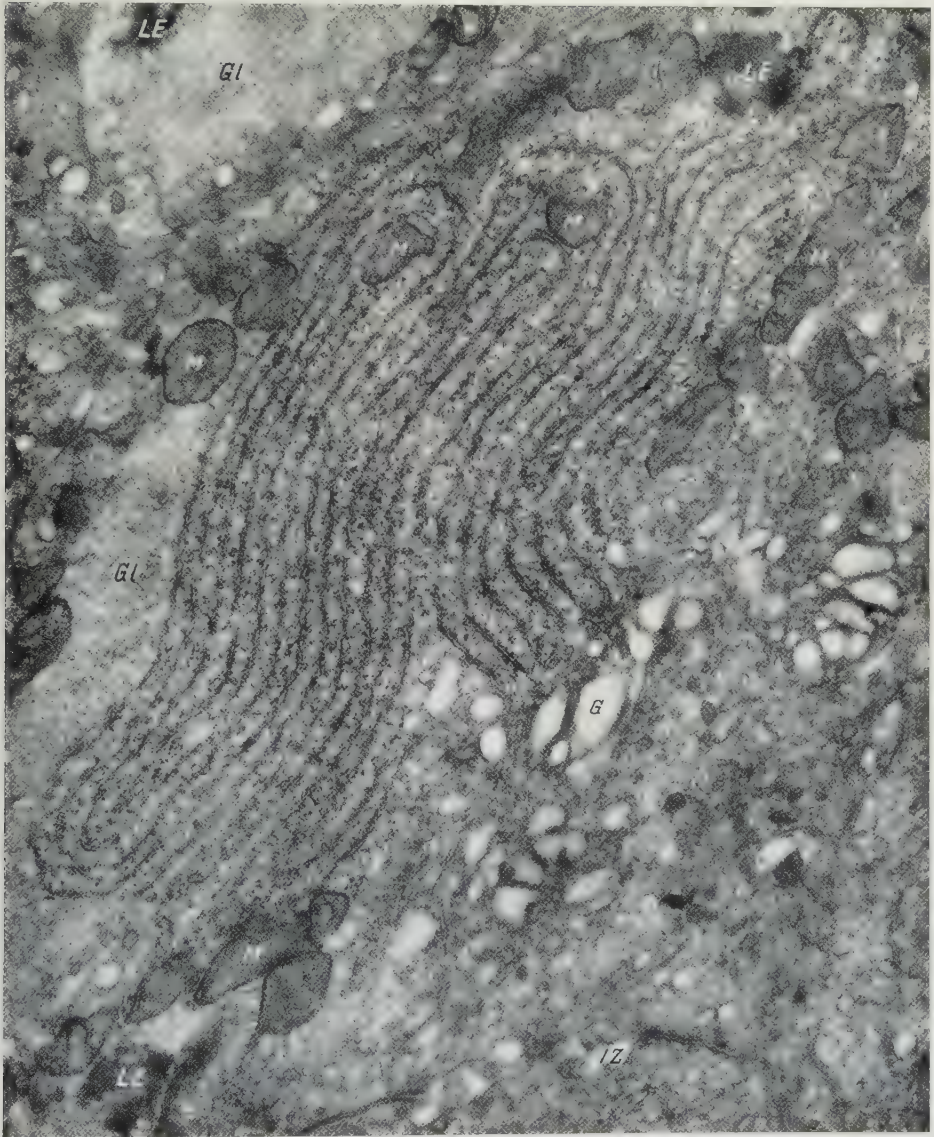


Abb. 35. EKA 4 (Hauptzellenadenom mit regressiven Veränderungen). Adenomzelle mit ausgedehntem Ergastoplasma- und Golgikomplex: *Gl* Glykogenlager (?); *IZ* interzellulärer Raum; *LE* Lipoid einschüsse; *M* Mitochondrium. Elektronenmikroskopische Vergr. 7200 $\times$, Endvergr. 27 500 $\times$, auf $\frac{1}{10}$ verkl.

Die Kerne lassen häufig schlauchförmige Einstülpungen (Weite etwa 300 $m\mu$, Tiefe bis zu 1,9 μ) erkennen. Das entsprechend invaginierte Zytoplasma (Abb. 34) enthält bisweilen Golgikomplexe, ergastoplasmatische Membransysteme oder auch Lipoid einschüsse. Die Struktur des Kernkörperchens (Durchmesser häufig

mehr als 2μ) ähnelt derjenigen der Nukleolen in den Zellen des EKA 1 (vgl. S. 776).

Die *Mitochondrien* sind bald schlank, bald gedrunken (Durchmesser 400 bis $900\text{ m}\mu$). Die Anordnung der *Cristae* wechselt ebenso wie in den Mitochondrien der Zellen des EKA 3 (s. S. 803).

Der *Golgiapparat* ist so ausgedehnt, daß man Anschnitte mehrerer Komplexe in einer Ebene finden kann. Sie liegen am Kern, am Plasmalemm und an den

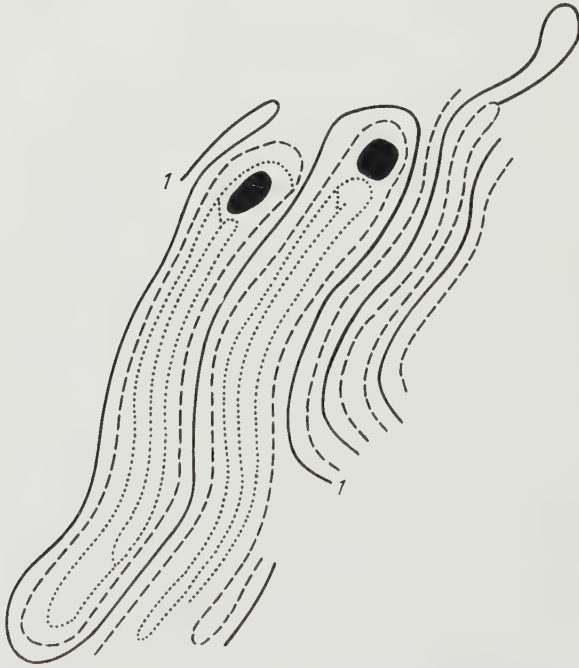


Abb. 36. Skizze des Ergastoplasmakomplexes der Abb. 35. Der Übersichtlichkeit wegen sind die einzelnen Profile in verschiedener Manier wiedergegeben. Ein ergastoplasmatischer Sack (1) reicht von der Nähe der Zelloberfläche bis zum Golgikomplex

Enden der Ergastoplasma-Profile (Abb. 35). Nahezu ausnahmslos sind die Räume zwischen den Doppel-lamellen vakuolär erweitert (Weite bis zu $1000 \times 300\text{ m}\mu$). Die Lamellenkomplexe werden von einer großen Anzahl bläschen- oder kanälchenartiger Strukturen umgeben, die sich als rundliche Profile mit einem Durchmesser von etwa $50\text{ m}\mu$ darstellen.

Die Komplexe aus parallel zueinander angeordneten, abgeflachten *ergastoplasmatischen* Säcken erreichen in den Zellen des EKA 4 ihre größte Entfaltung. Die Schnittfläche solcher Komplexe kann $6,2 \times 2,5\mu$, also etwa $15\mu^2$ betragen. Neben gerade oder leicht geschwungen verlaufenden beobachtet

man spiralig oder in großen Schleifengewundene Ergastoplasmaprofile (Abb. 35, 36), von denen oft rund 20 nebeneinanderliegen. Die Weite der ergastoplasmatischen Profile ist sehr gering (etwa $20\text{ m}\mu$), die Abstände zwischen ihnen sind sehr gleichmäßig (etwa $130\text{ m}\mu$). Regelmäßig sind in den Randpartien der Ergastoplasma-komplexe zwischen die einzelnen Säcke Mitochondrien eingeschoben; auch den ergastoplasmatischen Säcken, die einzeln im Zelleib liegen, schmiegen sich Mitochondrien sehr dicht an.

Die *Einschlüsse* der Zellen des EKA 4 bestehen aus ähnlichen Formen wie diejenigen der Zellen der anderen Adenome.

a) Nur einmal wurde ein sehr großer, runder Einschluß (Durchmesser 10μ) mit dünner, massendichter Schale und fast optisch leerem Inneren beobachtet. Dieses möglicherweise einem der lichtmikroskopisch festgestellten großen, sudanophilen Granula entsprechende Gebilde ähnelt entfernt den großen kugelförmigen Einschlüssen des EKA 1 (s. S. 781) und des EKA 2 (s. S. 798).

b) Kleine runde, massendichte Körper mit ziemlich gleichmäßigem Durchmesser (etwa $200\text{ m}\mu$) kommen zahlreich vor, hauptsächlich nahe dem Plasmalemm und in der Golgiregion. Größere rundliche Einschlüsse von länglicher Gestalt, deren Matrix wenige sehr massendichte Körnchen (Durchmesser $30\text{--}50\text{ m}\mu$) enthält, sind seltener [vgl. hierzu EKA 2, S. 798 unter (b)].

c) Oft sehr bizarr geformte sog. Lipoidgranula (Durchmesser etwa $800\text{ m}\mu$) sind in den Zellen des EKA 4 regelmäßig vorhanden (Abb. 34, 35).

Das Grundplasma der Zellen des EKA 4 ist reich an Kanälchen- und Bläschenstrukturen (Durchmesser $40\text{--}300\text{ m}\mu$), die möglicherweise das endoplasmatische Retikulum dieser Zellen ausmachen. Außerdem enthält das Grundplasma häufig viele unscharf begrenzte Granula (Durchmesser etwa $250\text{ \AA}$). Verhältnismäßig wenige Zellbezirke erinnern an die in den Zellen des EKA 3 beschriebenen strukturarmen Areale (Abb. 35; vgl. hierzu EKA 3, S. 806).

IV. Diskussion der Befunde

1. Überblick über die beobachteten Zelltypen

Die Erscheinungsformen der Adenomzellen lassen sich folgendermaßen ordnen (vgl. Abb. 37):

1. Gruppe: Große dunkle Elemente (Durchmesser bis zu $25\text{ }\mu$), deren Zelleib vollständig von einer lichtmikroskopisch darstellbaren azido- und sudanophilen Granulation durchsetzt ist, kein Glykogen und wenig oder gar kein Ergastoplasma enthält. Elektronenmikroskopisch findet man einen außerordentlichen Mitochondrienreichtum und einen typischen Golgiapparat. Wir haben diese Zellen als *oxyphile Zellen* im EKA 1 (S. 769 und 784) und im EKA 2 (S. 798) beschrieben (Abb. 37, 1).

2. Gruppe: Mittelförmige dunkle Zellen (Durchmesser etwa $14\text{ }\mu$), deren Zelleib von einer azidophilen Granulation erfüllt ist, wenig Glykogen und winzige Ergastoplasma-komplexe enthält. Es handelt sich um die *Mikroadenomzellen des EKA 2* (S. 794).

3. Gruppe: Kleine dunkle Zellen (Durchmesser etwa $9\text{ }\mu$), deren Zelleib azido- und sudanophile Granula enthält und sich durch mäßigen Glykogengehalt auszeichnet. In vielen Fällen finden sich ferner kleine Ergastoplasma-komplexe. Im elektronenmikroskopischen Bild treten sehr viele Mitochondrien, typische Golgi- und kleine Ergastoplasma-komplexe hervor. Es handelt sich um die *kleine dunkle Zelle des EKA 1* (S. 768 und 772; Abb. 37, 2).

4. Gruppe: Kleine helle Zellen (großer Durchmesser etwa $12\text{ }\mu$) mit geringer Färbbarkeit des Zelleibes, der reichlich scholliges Glykogen und viel Ergastoplasma beherbergt. Elektronenmikroskopisch finden sich eine mäßige Zahl von Mitochondrien, zahlreiche vakuoläre Golgikörper und ausgedehnte Ergastoplasma-komplexe, ferner große strukturarme Bereiche. Es handelt sich bei diesen Zellen um die *hellen Elemente des EKA 2* (S. 792 und 794; Abb. 37, 3).

5. Gruppe: Große helle Zellen (Durchmesser bis zu $20\text{ }\mu$), deren Zytoplasma eine sehr geringe Färbbarkeit aufweist, sehr viel Glykogen und — nicht immer — kleine Ergastoplasma-komplexe einschließt. Elektronenmikroskopisch zeichnen sie sich durch mäßigen Mitochondriengehalt, die Ausbildung typischer Ergastoplasma-komplexe, durch einen sehr stark entwickelten Golgiapparat und große, strukturarme Areale aus. Es handelt sich um die *Adenomzellen des EKA 3* (S. 800 und 801; Abb. 37, 4).

6. Gruppe: Große helle Zellen (Durchmesser etwa $16\text{ }\mu$) mit einer feineren oder gröberen netzigen Struktur des Zytoplasmas, in dem sehr viel Glykogen und kleine ergastoplasmatische Körper enthalten sind. Es handelt sich bei diesen Elementen um die *Mikroadenomzellen des EKA 1* (S. 771).

7. Gruppe: Kleine Zellen (Durchmesser etwa $10\text{ }\mu$), deren Zelleib sich bis auf einen perinukleären Hof mit sauren Farbstoffen in geringem Maß anfärbt und wenig Glykogen und sehr viel Ergastoplasma enthält. Elektronenmikroskopisch lassen sich ausgedehnte Ergastoplasma- und Golgikomplexe feststellen; der Mitochondrienbestand ist mäßig. Es handelt sich um die *Zellen des EKA 4* (S. 806; Abb. 37, 5).

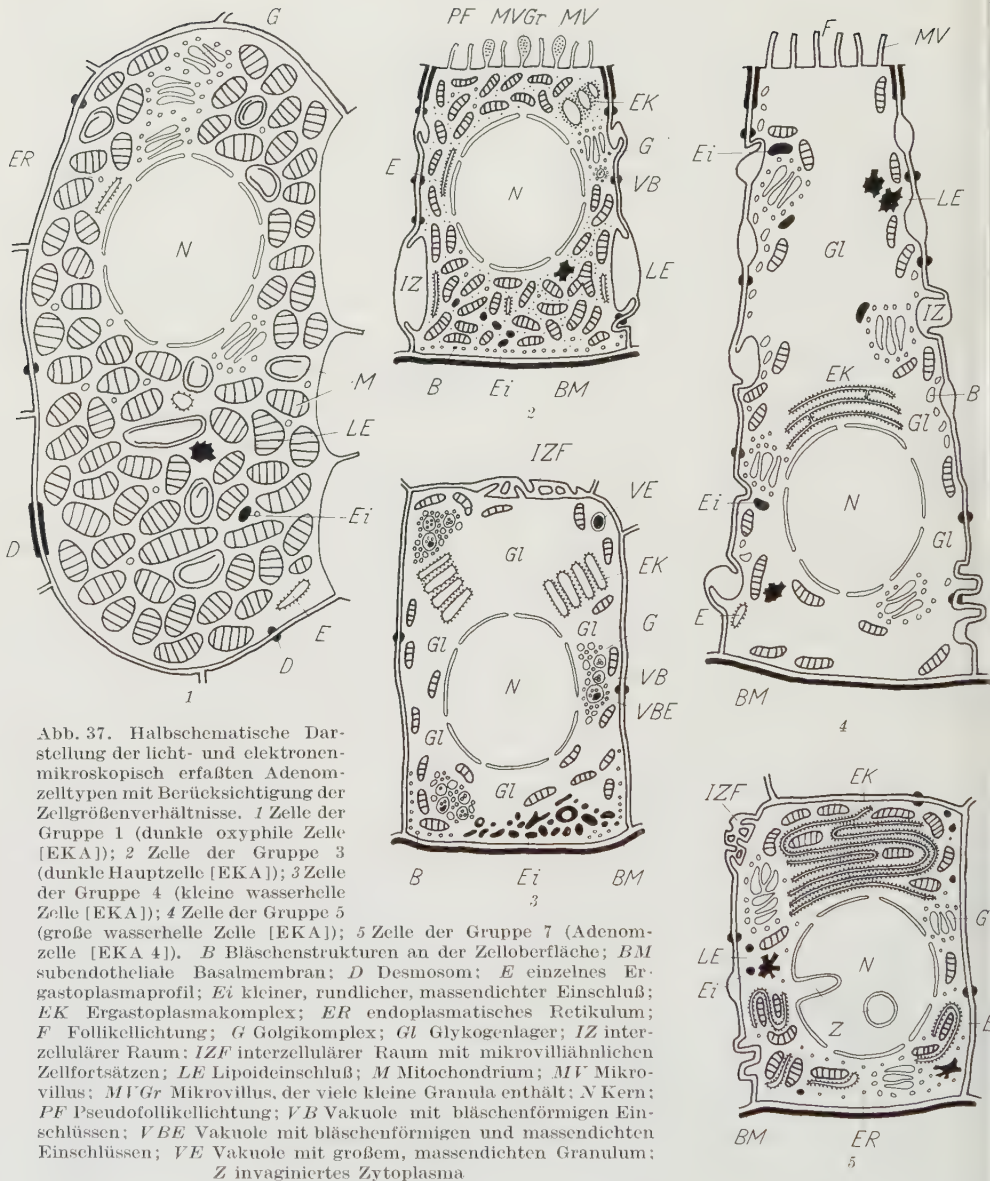


Abb. 37. Halbschematische Darstellung der licht- und elektronenmikroskopisch erfaßten Adenomzelltypen mit Berücksichtigung der Zellgrößenverhältnisse. 1 Zelle der Gruppe 1 (dunkle oxyophile Zelle [EKA]); 2 Zelle der Gruppe 3 (dunkle Hauptzelle [EKA]); 3 Zelle der Gruppe 4 (kleine wasserhelle Zelle [EKA]); 4 Zelle der Gruppe 5 (große wasserhelle Zelle [EKA]); 5 Zelle der Gruppe 7 (Adenomzelle [EKA 4]). B Bläschenstruktur an der Zelloberfläche; BM subendotheliale Basalmembran; D Desmosom; E einzelnes Ergastoplasmaprofil; Ei kleiner, rundlicher, massendichter Einschuß; EK Ergastoplasma-Komplex; ER endoplasmatisches Retikulum; F Follikellichtung; G Golgi-Komplex; GL Glykogenlager; IZ interzellulärer Raum; IZF interzellulärer Raum mit mikrovilliähnlichen Zellfortsätzen; LE Lipoideinschluß; M Mitochondrium; MV Mikrovillus; PF Pseudofollikellichtung; VB Vakuole mit bläschenförmigen Einschlüssen; VBE Vakuole mit großem, massendichten Granulum; Z invaginiertes Zytoplasma

2. Über die Beziehung zwischen der sekretorischen Leistung der Epithelkörperzellen und ihrer Struktur

a) **Parathormonsynthese.** Die Epithelkörperchen bilden das Parathormon, das selbst oder dessen wirksamer Bestandteil ein Protein ist (vgl. GREEP 1948; GREEP und KENNY 1955). Interessanterweise führten die Ergebnisse vieler Untersuchungen zu der Annahme, daß 2 Hormone verschiedenen Molekulargewichts und verschiedener Funktion vorhanden seien. Nach RASMUSSEN (1960) soll es sich jedoch um ein einheitliches Hormon handeln, dessen Molekular-

gewicht bei 8600 liegt und dessen Aminosäurezusammensetzung in großer Annäherung feststeht. Die Angaben, es handele sich um ein Hormon von Steroidcharakter (RAOUL et al. 1955), ferner die Behauptung, es gebe ein hypercalcämisierendes und ein hypocalcämisierendes Hormon (RUCART 1951; MARNAY et al. 1957), sind auf Grund der Kritik von RASMUSSEN et al. (1957) und von Vermutungen RUCARTS (1959) in Frage gestellt worden. Demnach kann nicht mit Sicherheit behauptet werden, daß sich die Tätigkeit der Epithelkörper auf die Bildung eines Hormons beschränkt.

Obwohl es sich bei allen von uns untersuchten Adenomen um singuläre Epithelkörper Tumoren handelt (s. S. 767) und obwohl unser Material von den EKA 3 und 4 fast ausschließlich aus Zellen eines Typs aufgebaut ist, können wir doch nicht von den klinischen Daten (Ca- und P-Konzentration im Serum) auf die sekretorische Aktivität der einzelnen Adenomzelltypen schließen, da jeweils nur ein Teil des Adenoms zur Untersuchung kam und da der Aufbau der Adenome (z. B. EKA 1, EKA 2) sehr uneinheitlich sein kann. Wir suchen daher nach einem morphologischen Kriterium für die Aktivität der jeweiligen Zelltypen in der Eiweiß(Parathormon)-Synthese.

Experimentelle Untersuchungen an den Epithelkörperchen verschiedener Tiere haben ergeben, daß sich mit ihrer Aktivität die Menge des Ergastoplasmas ihrer Zellen ändert (ALLARA 1953; WEYMOUTH 1957; LEVER 1958). Nach L'HEUREUX und MELIUS (1956: Ultrazentrifugierung von Epithelkörperhomogenat) ist das calciummobilisierende Prinzip des Parathormons in den „smaller subcellular structures“ (leider keine elektronenmikroskopische Kontrolle) enthalten, die von HOLTZ und PONSOLD (1960) als Mikrosomen gedeutet werden. Diese Befunde stehen im Einklang mit dem Ergebnis zahlreicher Untersuchungen an exokrinen und endokrinen Drüsen, nach denen eine Proteinsynthese mit einer entsprechenden Ausbildung von Ergastoplasma, zumindest mit einem Auftreten von RNP-Granula einhergeht. Wir werden daher die Ausbildung des Ergastoplasmas als Kriterium für die Stärke der Parathormonsynthese heranziehen dürfen. Allerdings ist zu beachten, daß das Ergastoplasma auch bei der Kolloidbildung eine Rolle spielen kann, da das Epithelkörperkolloid ebenfalls reichlich Protein enthält (SANDRITTER, FEDERLIN und GERATZ 1955).

b) Kolloidsynthese. Die Epithelkörperzellen können ein Kolloid hervorbringen, dessen Beschaffenheit anscheinend noch nicht bekannt ist, wenn man von dem oben zitierten Befund SANDRITTERS et al. absieht. Wir möchten es auf Grund unserer Befunde in die Gruppe der neutralen Mukoproteide (im Sinne von HALE 1957) einreihen. Im einzelnen spricht die stark positive PAS-Reaktion, die auch nach Diastase-Digestion in unverminderter Stärke ausfällt, in erster Linie für das Vorliegen eines Polysaccharids, das nicht aus einfachen Glukosemolekülen besteht. In die gleiche Richtung weist die schwache Anfärbung mit dem Schiff-Reagens allein nach Zenker-Fixierung (Bauersche Reaktion, s. ROMEIS 1948). Der Ausfall der Ninhydrin-Schiff- und der Diazetylbenzol-Reaktion läßt auf Eiweißaminogruppen schließen. Nach WEYGAND et al. (1956) reagiert Diazetylbenzol nämlich nicht mit Aminosucker (Glukosamin), der an der Bildung des Polysaccharidanteils beteiligt sein könnte. Da das Kolloid kein Methylenblau bei starker saurer Reaktion ($< \text{pH } 6$) bindet, dürfte das Vorhandensein dissoziierter anorganischer Säuren (Phosphorsäure: RNS; Schwefelsäure) auszuschließen sein.

Das Kolloid der Epithelkörperchen läßt sich somit in eine Gruppe ähnlich reagierender Epithelsekrete einreihen, zu denen z. B. das Kolloid der Schilddrüse (vgl. GROSS 1957), der Thymusretikulumzellen (*Hamster*, ITO 1959) und der Nebennierenrinde (PLANEL, GUILHEM und DUPRE 1958) gehören.

Eigentümlich ist die auf Schnitten durch die zentralen Anteile der Kolloidkörper des EKA 1 erkennbare Streifung (Periode 125—210 Å) und die andersartige Bauweise der Randpartien sowie ihrer bisweilen fibrillären Anteile (s. S. 786 und S. 798). Die regelmäßige Streifung der zentralen Anteile möchten wir auf einen Lamellenaufbau aus etwa gleich dicken, bald mehr, bald weniger massendichten Schichten zurückführen.

Über die Beteiligung der verschiedenen Zelltypen und Zellstrukturen an der Bildung des Kolloids liegen bisher offenbar keine Untersuchungen vor. GRAU und DELLMANN (1958) betonen die Beteiligung der dunklen Zellen am Aufbau der kolloidführenden Pseudofollikel; diese Angabe steht mit unseren Befunden am EKA 1 und EKA 2 in Einklang. Auf Grund des Eiweißgehaltes des Kolloids kann man lediglich annehmen, daß das Ergastoplasma an der Kolloidsynthese beteiligt ist (vgl. hierzu S. 813).

3. Die einzelnen Zelltypen

a) **Gruppe 1: Dunkle oxyphile Zellen (EKA).** Die großen dunklen Zellen der Gruppe 1 sind den dunklen oxyphilen Zellen im Sinne von BARGMANN (1939) und EGER und v. LESSEN (1954) außerordentlich ähnlich. Das lichtmikroskopische Strukturbild des Zytoplasmas und das Fehlen von Glykogen (GILMOUR 1939; EGER et al. l. c.), ferner der elektronenmikroskopisch darstellbare Mitochondrienreichtum (BAKER 1942; TRIER 1958) und die besondere Größe dieser Zellen (Durchmesser bis zu 25 µ) sprechen eindeutig für diese Behauptung. Unsere Beobachtung, daß die Zellen dieser Gruppe über sehr locker strukturierte Kerne mit großem Nukleolus und einer in der Regel glatten Membran verfügen, stimmt allerdings nicht überein mit den Angaben der meisten Autoren, nach denen die Kerne der oxyphilen Zellen zu Pyknosen neigen (HAMPERL 1937; BARGMANN 1939; GILMOUR 1939; EDER und HARTL 1955). Wir bezeichnen die Zelle der Gruppe 1 als dunkle oxyphile Zelle (EKA) um ihre bemerkenswerte Ähnlichkeit mit der dunklen oxyphilen Zelle normaler Epithelkörper zum Ausdruck zu bringen und gleichzeitig ihre Identität mit diesem Zelltyp nicht zu präjudizieren.

Das Strukturbild der dunklen oxyphilen Zelle wird durch ihren außerordentlich großen *Mitochondriengehalt* bestimmt (BAKER 1942; TRIER 1958). Ein Teil der Mitochondrien in der von uns beobachteten oxyphilen Zelle (EKA) weist insofern einen besonderen Bau auf, als die Cristae mitochondrales in Form spiralig orientierter Lamellen dicht unter der Mitochondrienwandung angeordnet sind. Ähnliche Beobachtungen („mitochondrion-like bodies“ mit einem „poly-laminated limiting membrane“) wurden von LEVER (1956a) an den Zellen der Nebennierenrinde des Hamsters gemacht. LEVER deutet diese vor allem in der stimulierten Nebennierenrinde (ACTH) gefundenen Gebilde als Stadien einer Mitochondrienbildung, die möglicherweise vom Golgiapparat ausgeht. TRIER (1958) findet im Epithelkörperchen des Affen den Oxyphilen ähnliche Zellen, die außer typischen Mitochondrien „whorl-like structures“ enthalten; diese Struk-

turen bestehen aus spiralig angeordneten Doppelmembranen, die in ihrer Dicke den Cristae mitochondriales entsprechen. Möglicherweise handelt es sich bei den „mitochondrion-like bodies“ von LEVER, den „whorl-like structures“ von TRIER und den von uns beobachteten Mitochondrienformen der oxyphilen Zelle (EKA) um verwandte Gebilde. Die Feststellung LEVERS, daß das gchäufte Vorkommen der „mitochondrion-like bodies“ ein Zeichen der Stimulation ist, erlaubt noch kein Urteil über die funktionelle Wertigkeit dieser Gebilde. Es könnte sich um Bildungs-, Aktivitäts- oder Degenerationsstadien von Mitochondrien handeln. Die Frage, wie die von uns beobachteten Mitochondrienbilder zu deuten sind, bleibt offen.

Nach unseren Beobachtungen besitzt die dunkle oxyphile Zelle (EKA) kein (EKA 1) oder fast kein (EKA 2) Ergastoplasma. BAKER (1942) und TRIER (1958) dagegen schreiben den dunklen oxyphilen Zellen einen auffälligen basophilen Körper zu. Offenbar ist der Aufbau der dunklen oxyphilen Zelle Schwankungen unterworfen. Ein einigermaßen umfassendes Bild der oxyphilen Zelle wird daher erst nach weiteren Untersuchungen, die auch die bisher schlecht definierte helle oxyphile Zelle umfassen, gezeichnet werden können.

Der lange vorherrschenden Meinung, die oxyphilen Zellen seien inaktive Elemente der Epithelkörperchen, steht die Tatsache ihres *Reichtums an Mitochondrien* entgegen. Mitochondrienreichtum gilt als Kennzeichen besonders aktiver Zellen (vgl. THIEL 1959). PEARSE und TREMBLAY (1959) sehen in den oxyphilen Zellen auf Grund ihres außerordentlichen Reichtums an oxydativen Fermenten „active secretory elements of the parathyroid glands“. RUCART (1949) deutet die oxyphile Zelle, obwohl er in ihr nur wenige Mitochondrien findet, als innersekretorisch aktives Element, das als extrem differenziertes Glied der „lignée sombre“ wie die anderen Zellen dieser Reihe ein die Phosphatdiurese förderndes Hormon produzieren soll (RUCART 1959). Nach unserer Annahme dürfte in der dunklen oxyphilen Zelle (EKA) nur eine unbedeutende Parathormonsynthese stattfinden, da ihr Ergastoplasma nur spärlich ausgebildet ist. Doch gibt es nach den oben zitierten Befunden anderer Autoren (BAKER, TRIER) auch ergastoplasmareiche oxyphile Zellen. Man muß daher mit der Möglichkeit rechnen, daß auch die oxyphilen Zellen an der innersekretorischen Tätigkeit der Epithelkörper teilhaben, zumal oxyphile Epithelkörperadenome mit typischen Zeichen eines Hyperparathyreoidismus bekannt sind (SOMMERS und YOUNG 1952). Auf jeden Fall müssen wir in den dunklen oxyphilen Zellen auf Grund ihres großen Mitochondrienreichtums, ihrer typischen Golgistrukturen und ihrer keineswegs pyknotischen Kerne Elemente sehen, die eine sekretorische Leistung vollbringen. Für ihre Beteiligung an der Kolloidsynthese fanden sich keine Anzeichen.

Die Frage der *Onkozytennatur* dieser Zellen (HAMPERL 1937) läßt sich erst dann diskutieren, wenn der Feinbau der als Onkozyten bezeichneten Zellen genauer bekannt ist. Nach CIPRIANI (1953) zeigen Onkozyten aus Speicheldrüsen (Tumoren des Menschen; normale Drüsen des Hundes) ein ähnliches histochemisches Verhalten (zytoplasmatische RNS; Azidophilie; Glykogen) wie die oxyphilen Zellen der hier untersuchten Adenome.

b) Gruppe 2. Die Zellen dieser Gruppe nehmen auf Grund ihres lichtmikroskopischen Strukturbildes, ihres geringen Glykogengehaltes und ihrer Zellgröße

eine Mittelstellung zwischen den dunklen Hauptzellen und den dunklen oxyphilen Zellen ein. Auffällig ist der Reichtum der von ihnen gebildeten Mikroadenome an Follikeln mit verschiedenen großen Kolloideinschlüssen. Auf Grund dieses Befundes möchte man in diesen Zellen Kolloidbildner sehen. Vielleicht stehen ihre kleinen, in der Zellperipherie gelegenen Ergastoplasmastrukturen mit dieser Sekretion in Zusammenhang.

c) Gruppe 3: Dunkle Hauptzellen (EKA). Die Zellen der Gruppe 3 stellen bezüglich der lichtmikroskopischen Struktur ihres Zytoplasmas (BARGMANN 1939 u. a.) und der ungleichmäßigen, geringen Ausbildung ihres Ergastoplasmas (BAKER 1942) den dunklen Hauptzellen sehr ähnliche Elemente dar. Damit stimmt auch die im Vergleich mit den dunklen oxyphilen Zellen (EKA) geringere Kerngröße und wesentlich geringere Zellgröße überein (EGER und v. LESSEN 1954). Wir nennen die Zellen dieser Gruppe mit der auf S. 814 vorgetragenen Begründung dunkle Hauptzellen (EKA).

Auffällig ist die schwache, nicht durchlaufende Zeichnung der Zellmembranen auf den elektronenmikroskopischen Bildern der dunklen Hauptzellen (EKA). Dieses Verhalten, das sowohl Kern- und Ergastoplasamembranen als auch die Plasmalemmata betrifft, gehört anscheinend zu den Struktureigentümlichkeiten der dunklen Hauptzellen (EKA), da es an benachbarten Endothelzellen nicht beobachtet wird. Insbesondere die doppelten Kernmembranen dieser Zellen fallen durch stets kräftige Zeichnung auf. LEVER (1957) stellt an normalen Epithelkörperzellen der Ratte ein unseren Angaben entsprechendes „lack of the integrity of many of the cell membranes“ fest. Die Interpretation dieser Befunde durch LEVER, daß es sich dabei um regelrechte Öffnungen in den verschiedenen Zellmembranen handele — die den Austritt des Hormons unter anderem direkt in den subendothelialen Raum begünstigen — scheint uns in Anbetracht der allgemeinen Bedeutung der Membranen (vgl. NETTER 1959) als zu einfach. Man gewinnt bei der Betrachtung derartiger Bilder vielmehr den Eindruck, es seien Teile der Membranen heraus gelöst worden; wir hätten also ein Artefakt vor uns. In der Tatsache, daß dieses Artefakt bei den Epithelzellen, nicht aber bei den Endothelzellen des EKA 1 beobachtet wird, sehen wir ein Zeichen für einen (unbekannten) Unterschied in der Struktur beider Zellarten.

Der Kern der dunklen Hauptzellen (EKA) ähnelt in vielen Einzelheiten dem anderer Zellen. So finden sich röhrenförmige Kernporen, die im Vergleich zu den Angaben von WATSON (1955) eine relativ geringe Weite (etwa $30\text{ m}\mu$) besitzen. In der Porenwand kann man gelegentlich Granula beobachten, die mit ihrem Durchmesser von etwa $150\text{ \AA}$ an ähnliche Gebilde der Porenwandung von Oozytenkernen (GALL 1956; WISCHNITZER 1958) erinnern. An die Poren schließt sich ein optisch fast leerer „intranuclear channel“ (WATSON 1959; ähnlich BARNES und DAVIS 1959) an.

Der Nukleolus zeigt Besonderheiten. Auf Schnitten durch das Kernkörperchen häufig sichtbare, sehr strukturarme Bezirke („Pars amorph“) sind in dieser Ausdehnung ($1,1\text{ }\mu$) für andere Zellen selten beschrieben worden (z. B. LUSE 1956: neoplastischer Astrozyt; FAWCETT 1956: Spermatozyten; COTTE 1959: Nebenniere; HAGUENAU 1960: virusbedingte Tumoren). Da solche Bezirke in vielen Nukleolusanschnitten der dunklen Hauptzellen (EKA) nicht zu beobachten sind,

stellen sie möglicherweise den Ausdruck besonderer Funktionszustände des Kernkörperchens dar. Ähnlich steht es mit den kegelförmigen Verbindungen aus dichtgelagerten Karyoplasmafibrillen zwischen Nukleolus und Kernmembran, die nicht immer zu beobachten sind. Sie werden von anderen Autoren teils als Leitstrukturen für die im Nukleolus gebildeten Substanzen (z. B. HORSTMANN und KNOOP 1957: Chromozentrum), teils als Nukleolarsubstanz selbst gedeutet (FAWCETT 1956). Diese Strukturen entsprechen ganz offensichtlich den in zahlreichen lichtmikroskopischen Arbeiten beschriebenen, von HERTL (1957) als „paranukleoläre feulgen-positive Massen“ bezeichneten Gebilden. Die Struktur der „Nukleolonemata“ mit ihrer wechselnden Zusammensetzung aus Granula (Durchmesser etwa 150 Å) und aus Fibrillen, die mit ihrem Durchmesser (etwa 50, 100, 200 Å) an die von RIS (1959) beschriebenen Desoxyribonukleoproteid-Fibrillen erinnern, ist sehr schwer zu enträtseln. Zum Teil handelt es sich bei diesen Fibrillen, zumal bei denjenigen, die kontinuierlich in das Karyoplasma übergehen, wohl um Chromonemata (HORSTMANN und KNOOP 1957). Doch dürfte ein großer Teil der Fibrillen anderer Natur sein (Eiweiß, RNS?). Zusammenfassend können wir nur sagen, daß die Struktur des Nukleolarapparates in den dunklen Hauptzellen (EKA) stark wechselt und daß diese Erscheinung möglicherweise verschiedenen Funktionsstadien des Nukleolus entspricht. Die Nukleolen der dunklen Hauptzellen haben wir am eingehendsten untersuchen können und an den Kernkörperchen der anderen Zelltypen meistens ähnliche Befunde erheben können, wenngleich seltener.

Die dunklen Hauptzellen (EKA) zeichnen sich wie die dunklen oxyphilen Zellen durch einen auffälligen, wenn auch geringeren Mitochondrienreichtum aus. Ihre Mitochondrien sind jedoch dünner ($0,3-0,5 \mu$ gegenüber $0,5-0,8 \mu$) und länger als die der dunklen oxyphilen Zellen (EKA).

Nach der Ausbildung des Ergastoplasma zu urteilen, könnte die dunkle Hauptzelle (EKA) an der Parathormonsynthese in geringem Umfang beteiligt sein. Diese Vorstellung würde in Einklang mit der Auffassung von EDER und HARTL (1955) stehen, nach der die dunklen Hauptzellen als oft einziger epithelialer Bestandteil normaler Beischilddrüsen den geringen physiologischen Parathormonbedarf decken.

Die stoffliche Natur und die Bedeutung der in den dunklen Hauptzellen (EKA) oft sehr zahlreichen, nicht membrangebundenen Granula (Durchmesser etwa 200 Å) ist nicht klar. Nach ihrem Durchmesser könnte es sich um RNP-Granula oder um Glykogenpartikel (vgl. FAWCETT und SELBY 1958: Muskelzellen) handeln. Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß diese Granula Vorstufen des Kolloids darstellen, zumal sie sich in vielen der Mikrovilli finden, die in die kolloidhaltigen Pseudofollikel hineinragen.

Wir haben die Ausbildung des Ergastoplasmas der dunklen Hauptzellen (EKA) auf die Parathormonsynthese bezogen. Die Lokalisation dieser Strukturen (peripher, meist nahe dem Pseudofollikel) sowie die Tatsache, daß sie im lichtmikroskopischen Bild den Ergastoplasmakomplexen der offenbar kolloidsezernierenden Mikroadenomzellen (Gruppe 2, s. oben) sehr ähneln, läßt es auch als möglich erscheinen, daß sie der Kolloidbildung dienen. Eine Entscheidung ist auf Grund unserer Befunde nicht möglich.

Auf die verschiedenen Zelleinschlüsse und die in der Nachbarschaft der Golgiapparate liegenden Vakuolen, die kleine Bläschen enthalten, werden wir bei der Besprechung der Zellen der Gruppe 4 eingehen.

d) Gruppe 4: Kleine wasserhelle Zellen (EKA). Die Zellen der Gruppe 4 scheinen am ehesten den kleinen wasserhellen Hauptzellen von EGER und v. LESSEN (1954) zu entsprechen. Zugunsten dieser Ansicht spricht die von einem großen Glykogengehalt herrührende, optische Leere, ferner das Größenverhältnis von Kern zu Zytoplasma sowie die nach Maßgabe der Ergastoplasmaausbildung starke Aktivität dieser Zellen (EGER und v. LESSEN). Wir werden sie kleine wasserhelle Zellen (EKA) nennen.

Die Mitochondrien der kleinen wasserhellen Zellen (EKA) stimmen hinsichtlich ihrer Maße mit denjenigen der dunklen Hauptzellen (EKA) überein, sind aber in allen 3 Dimensionen doppelt so groß wie die Mitochondrien der hellen Hauptzellen im Epithelkörperchen von *Macaca mulatta* (TRIER 1958). Die kleinen wasserhellen Zellen (EKA) erinnern an diese von TRIER beschriebenen Zellen infolge ihrer relativ geringen Strukturdichte, unterscheiden sich von ihnen aber durch die Ausbildung des Golgiapparates und des Ergastoplasmas. Ferner enthalten sie große strukturarme Bezirke (*Glykogenschollen*) sowie verschiedene Einschlüsse und vesikuläre Strukturen, die von TRIER nicht erwähnt werden.

Zunächst sei auf die *vakuolären Strukturen* eingegangen. Diese in geringerer Zahl auch in den dunklen Haupt- und dunklen oxyphilen Zellen (EKA), besonders zahlreich aber in den kleinen wasserhellen Zellen (EKA) vorkommenden Vakuolen (Durchmesser etwa 500 $m\mu$) mit kleinen Bläschen (Durchmesser etwa 50 $m\mu$) in ihrem Inneren ähneln sehr stark den in anderen Zellarten von PALAY und PALADE (1955), RHODIN und DALHAMN (1956), NILSSON (1958 u. a.), HALLY (1958), SOTELO (1959), FRANK und BARTON (1960) u. a. nachgewiesene Gebilde; sie werden in Anlehnung an SOTELO am einfachsten als *multivesikuläre Bläschen* bezeichnet. Diese Bläschen werden meistens von kleinen rundlichen Profilen (Durchmesser 50 $m\mu$) umgeben (vgl. auch NILSSON; FRANK und BARTON; SOTELO; HAGUENAU 1960); ihre Membran zeigt oft kleine Ein- und Ausbuchtungen (vgl. auch PALAY und PALADE). Wir finden die multivesikulären Bläschen in den kleinen wasserhellen Zellen (EKA) eindeutig als Bestandteile der Golgi-komplexe. Weiterhin beobachten wir multivesikuläre Bläschen, die verschiedene Mengen einer massendichten Substanz enthalten, schließlich Vakuolen, die fast ganz von einem massendichten Granulum ausgefüllt sind. Wir sehen in diesen Bildern den Ausdruck dafür, daß in den multivesikulären Bläschen der kleinen wasserhellen Zellen eine massendichte Substanz gebildet bzw. angereichert wird. Das Endstadium dieses Prozesses ist ein homogenes, massendichtes Granulum (Durchmesser etwa 400 $m\mu$) innerhalb einer Vakuole (Durchmesser etwa 500 $m\mu$), dem Rest eines multivakuolären Bläschens. Diese Deutung steht derjenigen HALLYS (1958) hinsichtlich der multivesikulären Bläschen in der Panethschen Körnerzelle sehr nahe. Die Frage nach der Qualität der in den multivesikulären Bläschen der kleinen wasserhellen Zellen gebildeten bzw. angereicherten Substanz können wir nicht beantworten. Es wäre denkbar, daß es sich um eine Speicherform des Parathormons handelt, welche den β -Zell-Granula der Langerhansschen Inseln morphologisch sehr ähnlich ist (vgl. STOECKENIUS und KRACHT 1958). Die multivesikulären Bläschen der kleinen wasserhellen Zellen

(EKA) scheinen nach unseren Befunden im Golgiapparat zu entstehen (vgl. HALLY 1958; HAGUENAU 1960) und der Bildung eines Granulum (Durchmesser etwa $400\text{ m}\mu$) zu dienen; sie würden damit keine „independent entities in the cytoplasm“ (SOTELO 1959) darstellen.

Wir haben in fast allen Adenomzellen 3 verschiedene Formen von *Einschlüssen* gefunden:

a) Die größten Formen (Durchmesser bis zu $5\text{ }\mu$), kugelige Gebilde mit verschieden gestalteter, massendichter und sudanophiler Schale und einem oft vakuolisiert erscheinendem, viel weniger dichtem Inneren, sprechen wir mit DEANE (1958) als *Lipopigmentkugeln* an. GILMOUR (1939) hat offenbar die gleichen Korpuskel in den Zellen normaler Epithelkörperchen beobachtet. TRIER (1958) bildet einige derartige Einschlüsse auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen von oxyphilen Zellen ab, ohne sie im Text zu erwähnen; dagegen deutet TRIER kleinere ovoide Körper (Durchmesser bis zu $1\text{ }\mu$) mit homogenem, wenig dichtem Inhalt, die den kleineren Lipopigmentkugeln des EKA 1 und EKA 2 zu entsprechen scheinen, als PSA-positive Granula, die möglicherweise gespeichertes Sekret (Kolloid) darstellen. Wir können dieser Deutung auf Grund unserer Beobachtungen nicht zustimmen.

b) In allen Adenomzelltypen fanden wir ferner kleine, dichte, rundlich geformte Einschlüsse (Länge etwa $0,5\text{ }\mu$) mit folgenden Charakteristika: Sie besitzen keine Außenmembran; meistens sind sie nicht homogen, sondern enthalten distinkte, besonders massendichte Körnchen. Sie liegen oft — besonders in den kleinen wasserhellen Zellen (EKA) — in großen, auffälligerweise den basalen Zellpol einnehmenden Ansammlungen. Wir haben bei der Beschreibung der hellen Zellen des EKA 2 (S. 798) darauf hingewiesen, daß zwischen diesen kleinen Einschlüssen und den Lipopigmentkugeln möglicherweise Übergangsformen bestehen. LEVER (1957) beschreibt unter der Bezeichnung „lipid bodies“ Einschlüsse, die infolge ihres granulären Aufbaus und ihrer Lokalisation (gefäßnaher Zellabschnitt) den hier erörterten Einschlüssen annähernd entsprechen. LEVER glaubt, sie gingen aus Mitochondrien hervor. Wir haben unter unseren Einschlüssen wohl längliche und Y-förmig gegabelte Formen, die auch bei den Mitochondrien beobachtet werden, gefunden, dagegen keine Zwischenformen, die eine Innenstruktur wie Mitochondrien aufweisen. Ursprung und Bedeutung dieser Einschlüsse ließen sich nicht ermitteln, zumal ihre stoffliche Natur nicht bestimmt werden konnte.

c) Gleichmäßig dichte, bisweilen bizarr geformte Lipoideinschlüsse (Durchmesser bis zu $800\text{ m}\mu$) vergleichbar jenen, die LEVER (1957) und TRIER (1958) in Epithelkörperzellen beobachten, haben wir in wechselnder Zahl in allen Zelltypen festgestellt. Zur Deutung dieser für viele Zellarten bereits bekannten Einschlüsse vermögen wir nichts beizutragen, zumal ihre anscheinend unregelmäßige Lokalisation im Zelleib keinerlei Anhaltspunkte bietet.

Die großen Glykogenschollen sind für die licht- und elektronenmikroskopisch geringe Strukturdichte der kleinen wasserhellen Zellen (EKA) verantwortlich. GILMOUR (1939) erklärt die optische Leere der hellen Epithelkörperchenzellen mit der Lösung des Glykogens durch wäßrige Fixantien. Offensichtlich ist aber die Herauslösung des Glykogens nicht für die optische Leere des Zelleibes verantwortlich zu machen, da sich das Glykogen mit Plasmafarbstoffen gar nicht

tingieren läßt (s. Abb. 20). Ob die Behauptung EGERs und v. LESSENS, die großen wasserhellen Zellen enthielten weniger Glykogen als die kleinen, zutrifft, ist in Anbetracht der sehr unterschiedlichen Fixierbarkeit dieser paraplasmatischen Substanz sehr fraglich (vgl. GRAUMANN 1957). Im elektronenmikroskopischen Bild erweisen sich die Glykogenschollen als eintönig strukturierte, wenig massendichte Zellbereiche (vgl. SCHIEBLER und KNOOP 1959; ENGFELDT et al. 1959). Auffällig sind allerdings die Strukturunterschiede der Glykogenmassen in den kleinen wasserhellen Zellen (EKA) und den großen wasserhellen Zellen des EKA 3 (Gruppe 5). Während wir in diesen Zellen ein enges Netzwerk (Maschenweite etwa $50\text{ m}\mu$) aus mäßig massendichten Strängen (Durchmesser etwa $20\text{ m}\mu$) beobachten, finden wir in jenen ein relativ weitmaschiges Netzwerk, dessen entsprechende Abmessungen das Dreifache der genannten Werte erreichen. In Anbetracht des Befundes von BAHR (1957), daß Glykogen nicht mit Osmiumtetroxyd reagiert (Zimmertemperatur), könnte man annehmen, daß sich das Glykogen vor allem in den optisch fast leeren Maschen des beobachteten Netzwerkes befindet, während die massendichteren Stränge das Eiweiß(?) - Gerüst der Glykogenschollen darstellen: aus dieser Annahme könnte man folgern, daß das Glykogen in den kleinen wasserhellen Zellen (EKA) in Form größerer Partikel, in den großen wasserhellen Zellen des EKA 3 — entsprechend der geringeren Maschenweite — in Form kleinerer Partikel vorliegt. Dieser Folgerung würde unsere Beobachtung entsprechen, wonach das Glykogen im EKA 2 durch Carnoy-Fixierung besser erhalten wurde als dasjenige im EKA 3.

Die Bedeutung des Glykogens für die sekretorische Leistung der Epithelkörperchenzellen ist unbekannt. Im Gegensatz zu andersartigen Berichten vor allem der älteren Literatur (vgl. BARGMANN 1939; WERNLY und BERDJIS-CHAMSI 1946) kann allerdings als sehr wahrscheinlich angenommen werden, daß die einzelnen Zelltypen menschlicher Epithelkörper einen jeweils charakteristischen Glykogengehalt besitzen (GLIMOUR 1939; EGER und v. LESSEN 1954). Da dieser in den hellen, als besonders aktiv geltenden Elementen am größten ist, sehen EGER und v. LESSEN im Glykogen eine für die sekretorische Funktion der Epithelkörperchenzelle erforderliche Substanz. Bezüglich der Epithelkörperchen der häufig untersuchten *Ratte* sind die Mitteilungen über den Glykogengehalt widersprüchlich: Während DEMPSEY (1948) und SANDRITTER, FEDERLIN und GERATZ (1955) hier kein Glykogen nachweisen können, untersuchten HARA und FUJII (1960) die Abhängigkeit des Glykogengehaltes vom Alter, YANG (1960) von der Schwangerschaft und Laktation gerade bei diesem Tier mit positiven Resultaten. Ohne Frage muß bei Glykogenuntersuchungen auf die Fixierung besonders geachtet werden (vgl. GRAUMANN 1957; 1958). In unseren allerdings nicht systematischen Untersuchungen hat sich dabei der Gefrier austausch — gleichgültig, ob mit Rossmannscher Flüssigkeit nach PEYROT (1956) oder mit Azeton oder Methanol durchgeführt — als weitaus beste Methode erwiesen (vgl. auch SCHIEBLER und KNOOP 1959).

Um einen Hinweis auf die mögliche Bedeutung des Glykogengehaltes zu gewinnen, wird später versucht, quantitative Beziehungen zwischen dem Glykogengehalt und anderen Bestandteilen der untersuchten Adenomzellen aufzustellen (s. unten).

e) Gruppe 5: Große wasserhelle Zellen (EKA). Die Zellen der Gruppe 5 ähneln bezüglich ihres lichtmikroskopischen Verhaltens, insbesondere mit ihren nicht

selten pyknotischen Kernen und in ihrer Größe (Durchmesser bis zu 20μ) sehr stark den großen wasserhellen Hauptzellen von EGER und v. LESSEN (1954) sowie den (großen) wasserhellen Zellen von EDER und HARTL (1955). Wir nennen sie daher große wasserhelle Zellen (EKA). Auffällig ist ihr im Vergleich mit den kleinen wasserhellen Zellen (EKA) größerer Glykogengehalt und die geringe Ausbildung ihres Ergastoplasmas. Offensichtlich haben wir in ihnen weniger aktive Zellen vor uns. Diese Ansicht stimmt mit der funktionellen Deutung der großen wasserhellen Elemente normaler Epithelkörperchen im großen und ganzen überein (EGER und v. LESSEN; EDER und HARTL).

Im EKA 4, in welchem wir die großen wasserhellen Zellen (EKA) beobachteten, hatten wir die Möglichkeit, sie lichtmikroskopisch mit anscheinend normalen Epithelkörperzellen zu vergleichen. Sie unterscheiden sich von ihnen durch ihren wesentlich größeren Zelleib (Durchmesser etwa 20μ gegenüber 10μ), durch weniger deutliche Nukleolen und durch eine größere Variationsbreite ihrer Kerngrößen (bei je 30 Kernen: $s_B = \pm 4,7$ gegenüber $s_B = \pm 1,8$). In der mittleren Kerngröße ($\bar{x}_B = 30$) weichen sie — von den riesenkernigen Elementen abgesehen — nur unerheblich von den kleineren normalen Epithelkörperzellen ab.

f) Gruppe 6. Die nur nach den Befunden am Carnoy-Präparat charakterisierten Zellen entsprechend weitgehend den großen wasserhellen Zellen (EKA). Ihr Zytoplasma erscheint etwas dichter strukturiert, ihre Kerne sind etwas größer und zeigen eine noch ausgedehntere Variationsbreite.

g) Gruppe 7: Adenomzellen (EKA 4). Die Klassifizierung der Zellen dieser Gruppe bereitet große Schwierigkeiten. Ließen sich die Zellen der EKA 1, 2 und 3 normalen Epithelkörperchenzellen im großen und ganzen vergleichen, so entziehen sich die Zellen dieser Gruppe vor allem wegen ihrer mannigfaltigen Kernformen einer vergleichenden Betrachtung. Wir bezeichnen sie daher als *Adenomzellen* (EKA 4).

Die Adenomzellen (EKA 4) zeichnen sich durch eigenartig gewundene Ergastoplasma-Profile aus, von denen einzelne bisweilen in einen Golgikomplex überleiten (Abb. 35). Dieser Befund läßt sich sowohl im Sinne einer genetischen Beziehung zwischen Golgiapparat und Ergastoplasma (KLUG 1960) als auch im Sinne eines funktionellen Zusammenwirkens der beiden Strukturen deuten (vgl. G. C. HIRSCH 1960 u. a.). Auffällig ist weiter, daß die Mitochondrien in den Adenomzellen (EKA 4) eine enge Lagebeziehung zu den ergastoplasmatischen Säcken verraten, sei es, daß sie zwischen diesen in die Ergastoplasmakomplexe von außen eindringen, sei es, daß sie sich einzelnen ergastoplasmatischen Säcken sehr dicht anschmiegen. Wir haben eine solche Beziehung in keiner der anderen Adenomzellen beobachtet (vgl. hierzu S. 823).

Wegen der starken Entfaltung der Ergastoplasmakomplexe müssen in den Adenomzellen (EKA 4) hormonal außerordentlich aktive Elemente gesehen werden, zumal Anzeichen einer Kolloidsekretion nicht festgestellt wurden.

4. Der perikapilläre Raum

Alle Kapillaren der Epithelkörperadenome verlaufen in einem durch eine subendotheliale und eine subepitheliale Basalmembran begrenzten Raum („subendothelial space“ von LEVER 1956 b; „perivascular space“ von TRIER 1958). Im

Gegensatz zur Annahme TRIERS (l. c.), Bindegewebsfasern könnten sich in nicht von einer Basalmembran ausgekleideten interzellulären Spalträumen der Epithelkörperchen befinden, sprechen unsere Befunde an Adenomen mit einem reicheren Bindegewebsgerüst (EKA 2, EKA 3) dafür, daß alle Kollagenfibrillen in Räumen verlaufen, die durch eine subepitheliale Basalmembran begrenzt sind. Es liegen keine Anhaltspunkte dafür vor, daß diese Bindegewebsräume von den „subendothelial spaces“ getrennt sind. Je nach der Ausdehnung des Bindegewebsgerüsts und der Art der Epithelzellformationen haben wir daher von einem perikapillären (EKA 1), intertrabekulären (EKA 2) oder interfollikulären Raum (EKA 3) gesprochen. In Analogie zu dem „interacinar space“ des exokrinen Pankreas (EKHOLM und EDLUND 1959) möchten wir von einem *intertrabekulären* Raum sprechen, der je nach der Anordnung der Epithelzellen verschieden ausgebildet sein kann.

Charakteristisch für diesen Raum ist seine Abgrenzung durch Basalmembranen (a) und sein Inhalt, der aus Zellen (b) und Fibrillen (c) besteht.

a) Die Basalmembranen (im Sinne von PEASE 1960), die das bekannte elektronenmikroskopische Bild zeigen, sind unterschiedlich dicke (EKA 1: subendothelial etwa 40 m μ ; subepithelial oft 60 m μ) und weisen auf der Seite des Endothels Unterbrechungen auf.

b) Die Zellen des intertrabekulären Raumes sind vor allem die von TRIER (1958) als Fibroblasten, von EKHOLM und EDLUND (1959) als fibroblastoide Zellen bezeichneten Elemente, ferner Mastzellen und vermutlich pathologische Ansammlungen von Blutzellen. Die „fibroblastoiden“ Elemente sind mit zahlreichen Ausläufern ausgestattet, die bisweilen in enger Nachbarschaft zu den Basalmembranen beobachtet werden. LEVER (1956 b) erwähnt in seiner Beschreibung des „subendothelial space“ verschiedener endokriner Drüsen und speziell der Epithelkörperchen der Ratte (1957) keine Zellen.

c) Bei den sehr zahlreichen Fäserchen des intertrabekulären Raumes handelt es sich sicherlich um Kollagenfibrillen (LEVER 1956b). Ihre Verlaufsrichtung läßt sich elektronenmikroskopisch infolge ihrer leichten Wellung ohne Serienschneittechnik nicht bestimmen. Anscheinend ziehen sie in Richtung der Kapillaren; an größeren Fasern des intertrabekulären Raumes nämlich haben wir diesen Verlauf lichtmikroskopisch eindeutig feststellen können (EKA 1, S. 772).

5. Zusammenfassende Betrachtung der beobachteten Adenomzelltypen und Bemerkungen zur Klassifikation der Epithelkörperzellen

Die Problematik der Epithelkörperadenome deutet sich darin an, daß gerade sie in der Diskussion um die Systematik der Tumoren eine bedeutende Rolle spielen (vgl. BÜNGELER 1951; v. ALBERTINI 1956). Sicher erscheint, daß sie — jedenfalls unsere Epithelkörperadenome — keine auf Hypocalcämie reagierenden funktionellen Hyperplasien darstellen; anderenfalls wäre nicht verständlich, daß sie den Serum-Ca-Spiegel auf einer Höhe von 12—15 mg-% halten. Daß dieser hohe Ca-Spiegel überhaupt von den EKA herrührt, ergibt sich daraus, daß er mit der Exstirpation der Adenome rasch auf die Norm bzw. auch darunter absinkt. Die Frage nach der Regulation der Hormonsekretion in den Epithelkörperadenomen ist offen. Hiermit wird die Schwierigkeit eines Vergleiches zwischen den Adenomzellen und den Zellen normalen Epithelkörperchengewebes deutlich.

Wir haben die von uns beobachteten Adenomzellen dennoch in Anlehnung an die für normale Epithelkörperzellen geltende Nomenklatur benannt und glauben, in den einzelnen Fällen gute Gründe dafür gefunden haben. EGER und v. LESSEN (1954) treten allerdings entschieden gegen ein solches Vorgehen auf. Sie beziehen sich dabei auf das Verhalten sehr großer Adenome (Gewicht über 20 g); unsere aus „annähernd normalen“ Epithelkörperchenzellen aufgebauten Adenome (EKA 1, 2, 3) dagegen wiegen nur 0,8, 1 und 2 g. Bei dem größten unserer Adenome (EKA 4: 7 g) fanden auch wir von normalen Epithelkörperchenzellen in ihrer Struktur auffällig abweichende Elemente. Wir vermuten, daß das Zellbild von der Größe und damit vielleicht auch vom Alter

der Adenome abhängt. Inwiefern in diesem Zusammenhang Ernährungsstörungen eine Rolle spielen, können wir nicht entscheiden. Es dürfte in Zukunft gelingen, normales Epithelkörpergewebe, das sich nach ALBRIGHT und REIFENSTEIN (1948) regelmäßig am Rand des Adenoms findet und das wir in einem Falle (EKA 3) lichtmikroskopisch erfassen konnten, auch elektronenmikroskopisch zu untersuchen. Sollte sich dann unser Befund vom Mitochondrienreichtum der dunklen Hauptzelle (EKA) auch für die entsprechenden Zellen normalen Epithelkörperchengewebes als richtig erweisen, wäre das von einiger Bedeutung für unsere Vorstellungen hinsichtlich der funktionellen Morphologie der Epithelkörperzellen. Einstweilen können wir nur für die beobachteten Adenomzellen folgende Übersicht aufstellen: Abb. 38.

Wir stellen also mitochondrienreiche (dunkle), dabei glykogenfreie oder -arme Zellen (dunkle oxyphile Zelle [EKA], dunkle Hauptzelle [EKA]) und glykogenreiche (helle) Zellen mit mäßigem Mitochondriengehalt (kleine und große wasserhelle Zellen [EKA]) fest. Die Unterschiede im Zellaufbau lassen sich dahingehend deuten, daß die dunklen Zellen in der Atmungsketten-, die hellen dagegen vor allem in der Glykolyse-Phosphorylierung ihre Quelle für die zur Sekretsynthese erforderliche Energie besitzen dürften. Allerdings muß die Frage nach dem Sekret der dunklen Zellen offenbleiben: die Ausbildung des Ergastoplasmas (Parathormonsynthese; eventuell Kolloidsynthese) steht nach unseren Befunden in den dunklen Zellen in keinem Verhältnis zu dem großen Mitochondrienreichtum.

Die bisher nicht berücksichtigten Adenomzellen (EKA 4) fallen aus der für die übrigen Zellen einigermaßen gültigen Regel (reziprokes Verhältnis zwischen Mitochondrien- und Glykogengehalt) insofern heraus, als sie wenig Glykogen und nur relativ wenige Mitochondrien enthalten. Von den hellen Zellen unterscheiden sie sich auffällig in folgender Weise: Während die Ergastoplasma-komplexe der hellen Zellen stets ziemlich isoliert von den anderen Zellorganellen liegen, in der Regel aber mit den Glykogenmassen in Berührung stehen (vgl.

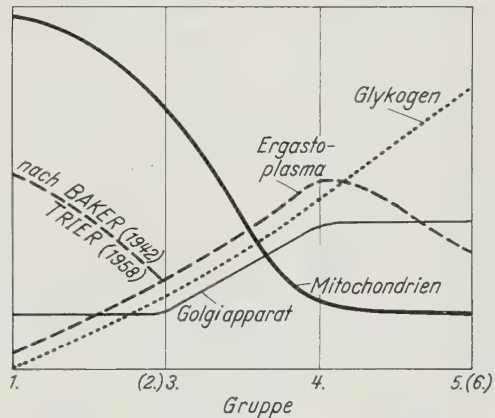


Abb. 38. Veranschaulichung des quantitativen Verhaltens der Zellorganellen bzw. des Glykogens der beobachteten EKA-Zellen (Gruppe 1—6)

die Interpretation der Glykogenmassen S. 823), weisen die Ergastoplasma-komplexe und -einzelp Profile der Adenomzellen (EKA 4) die schon hervorgehobene enge Lagebeziehung vor allem zu den Mitochondrien auf. Wir erblicken in diesem Bild den Ausdruck einer engen Zusammenarbeit der beiden Zytoplasmastrukturen, vor allem in dem Sinne, daß die Mitochondrien (s. oben) die Energiespender für die an das Ergastoplasma gebundene Parathormonsynthese sind. Der den Mitochondrien in den EKA-Zellen beigemessenen Bedeutung gemäß wären die Adenomzellen (EKA 4) also den dunklen Zellen zuzuordnen. Hier wird wieder das Rätsel der sekretorischen Funktion der dunklen oxyphilen Zelle (EKA) und der dunklen Hauptzelle (EKA) deutlich: Sie besitzen zwar die Energiespender in sehr großer Anzahl, für eine Stoffbereitung verantwortlich zu machende Zellstrukturen (Ergastoplasma) sind jedoch nicht in vergleichbarer Ausdehnung zu beobachten.

Zur Ordnung unserer Adenomzelltypen bietet sich uns die RUCARTSche (1949) Konzeption von der „lignée claire“ und der „lignée sombre“ als die geeignetste an. RUCART hat seine Klassifikation auf Grund lichtmikroskopischer Beobachtungen aufgestellt. Er unterscheidet Mitochondrien und azidophile Granulationen, die nach unseren Beobachtungen praktisch gleichzusetzen sind. Wir sehen als Charakteristikum der „lignée sombre“ den Mitochondrienreichtum an und rechnen zu ihr die dunkle oxyphile Zelle (EKA) und die dunkle Hauptzelle (EKA). Die „lignée claire“ in unserem Sinne zeichnet sich dagegen durch einen großen Glykogengehalt und geringen Mitochondriengehalt aus; zu ihr gehören die wasserhellen Zellen (EKA).

Über den von RUCART (1949, 1951, 1959) angenommenen Unterschied in der Funktion der beiden Differenzierungsreihen („lignées“) der Epithelkörperzellen können wir auf Grund unseres Materials nichts aussagen.

Zu der neuerdings von SANDRITTER, FEDERLIN und GERATZ (1955) auf Grund histochemischer und quantitativer Untersuchungen gegebenen Klassifikation der Epithelkörperchenzellen der Ratte können wir auf Grund unserer Untersuchungen nicht Stellung nehmen. SANDRITTER u. Mitarb. finden nämlich kein Glykogen, das für die Klassifikation unserer EKA-Zelltypen und der Zellen normaler menschlicher Epithelkörperchen von Bedeutung ist (GILMOUR; EGER und v. LESSEN). Möglicherweise bestehen in diesem Punkt Unterschiede zwischen den Epithelkörperchen der verschiedenen Spezies (vgl. dagegen die Befunde von HARA und FUJII 1960; YANG 1960; S. 820).

Zusammenfassung

Teile von 4 singulären, operativ gewonnenen Hauptzellenadenomen menschlicher Epithelkörperchen wurden in Hinblick auf Zelltypen, Verhalten des Kolloids und des perikapillären Raumes licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Zelltypen wurden — soweit es möglich war — in Anlehnung an die Nomenklatur normaler Epithelkörperzellen benannt.

1. Die dunkle oxyphile Zelle (EKA) besitzt einen bläschenförmigen Kern, außerordentlich zahlreiche Mitochondrien, typische Golgstrukturen und nur sehr spärliches Ergastoplasma. Im Gegensatz zu einer verbreiteten älteren Auffassung wird sie auf Grund ihres Mitochondrienreichtums als *aktives Element* gewertet. Die Frage ihrer Zugehörigkeit zu den *Onkozyten* bleibt offen.

2. Die dunkle Hauptzelle (EKA) enthält ebenfalls sehr viele Mitochondrien und nur wenig Ergastoplasma. Sie dürfte hinsichtlich ihrer funktionellen Bedeutung der dunklen oxyphilen Zelle (EKA) nahestehen.

3. Die kleine wasserhelle Zelle (EKA) zeichnet sich durch großen Glykogenreichtum, viel Ergastoplasma und nur mäßige Mitochondrienzahl aus.

4. Die große wasserhelle Zelle (EKA) ist das glykogenreichste Element; sie enthält relativ wenig Ergastoplasma.

5. Eines der untersuchten Adenome (EKA 4) besteht aus Elementen, die sich vor allem durch die Polymorphie ihrer Kerne auffällig von normalen Epithelkörperzellen unterscheiden.

6. Die verschiedenen Adenomzelltypen lassen sich am besten nach der RUCARTschen Konzeption einer „lignée sombre“ und einer „lignée claire“ ordnen. Die „lignée sombre“ [dunkle oxyphile und dunkle Hauptzellen (EKA)] ist durch Mitochondrienreichtum, die „lignée claire“ [wasserhelle Zellen (EKA)] durch Glykogenreichtum charakterisiert.

7. Das Kolloid der Epithelkörperchen wird als neutrales Mukoproteid angesprochen; eine „kristalloide“ Feinstruktur (Periode 125—210 Å) des Sekrets wird beschrieben.

8. Der in den einzelnen Adenomen verschieden ausgebildete perikapilläre Raum — allgemein als intertrabekulärer Raum bezeichnet — weist in einem Falle Unterbrechungen der subendothelialen Basalmembran auf.

9. Die zahlreichen Poren der Kapillaren lassen fast immer ein Diaphragma erkennen.

Literatur

- ALBERTINI, A. v.: Allgemeine Systematik der Geschwülste. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. IV/3. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- ALBRIGHT, F., and E. C. REIFENSTEIN: The parathyroid glands and metabolic bone disease. Baltimore: Williams & Wilkins Company 1948.
- ALLARA, E.: Modificazioni istologiche nelle paratiroidi di cane in ipertrofia compensatoria. Monit. zool. ital. **60**, 26—39 (1953).
- BAHR, G. F.: Osmium tetroxide and Ruthenium tetroxide and their reactions with biologically important substances. Electron stains III. Exp. Cell Res. **7**, 457—479 (1954).
- BAKER, B. L.: A study of the parathyroid glands of the normal and hypophysectomized monkey (*Macaca mulatta*). Anat. Rec. **83**, 47—73 (1942).
- BARGMANN, W.: Die Epithelkörperchen. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI/2. Berlin: Springer 1939.
- BARNES, B. G., and J. M. DAVIS: The structure of nuclear pores in mammalian tissues. J. ultrastruct. Res. **3**, 131—146 (1959).
- BERNHARD, W., et E. DE HARVEN: L'ultrastructure du centriole et d'autres éléments de l'appareil achromatique. In: 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Verhandlungen Bd. II. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- BLACK, B. K., and L. V. ACKERMANN: Tumors of the parathyroid. Cancer (N. Y.) **3**, 415—444 (1950).
- BÜNGELER, W.: Geschwülste und regulierte abhängige Wachstumsstörungen (Hyperplasien) im Rahmen der Cellular- und Relationspathologie. Z. Krebsforsch. **58**, 72—102 (1951).
- BURSTONE, M. S.: An evaluation of histochemical methods for protein groups. J. Histochem. Cytochem. **3**, 32—49 (1955).
- CIPRIANI, P. L.: Significato degli oncociti e dei tumori a componente oncocitaria attraverso il loro profilo citochimico. Arch. De Vecchi Anat. pat. **19**, 481—505 (1953).
- COTTE, G.: Observations au microscope électronique d'appareils nucléolaires dans la surrénale du cobaye, du hamster et du chat. Z. Zellforsch. **50**, 232—237 (1959).
- Z. Zellforsch., Bd. 53

- DEANE, H. W.: Intracellular lipides: Their detection and significance. In: *Frontiers of cytology* (Edit.: S. L. PALAY). New Haven: Yale University Press 1958.
- DEMPEY, E. W.: The chemical cytology of endocrine glands. *Recent Progr. Hormone Res.* **3**, 127—153 (1948).
- EDER, M., u. F. HARTL: Zur funktionellen Morphologie der Epithelkörperchen. *Beitr. path. Anat.* **115**, 470—487 (1955).
- EGER, W., u. H. VAN LESSEN: Beiträge zu einer funktionellen Deutung der Zelltypen menschlicher Epithelkörperchen mit Wertung ihres Verhaltens bei einzelnen Krankheitszuständen. *Beitr. path. Anat.* **114**, 323—354 (1954).
- EKHOLM, R., and Y. EDLUND: Ultrastructure of the human exocrine pancreas. *J. ultrastruct. Res.* **2**, 453—481 (1959).
- ENGFFELDT, B., J. HELLSTRÖM, B. IVEMARK und J. RHODIN: Elektronmikroskopi och histokemi vid parathyreoideaadenom. (Engl. Zusammenfassung.) *Nord. Med.* **61**, 558 (1959).
- FASSBENDER, H. G.: Pathologische Anatomie der endokrinen Drüsen. In *KAUFMANN'S Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie*, Bd. I/2. Berlin: Walter de Gruyter & Co. 1956.
- FAWCETT, D. W.: The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 403—406 (1956).
- , and C. S. SELBY: Observations on the fine structure of the turtle atrium. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 63—72 (1958).
- FRANKS, L. M., and A. A. BARTON: The effects of testosterone on the ultrastructure of the mouse prostate in vivo and in organ cultures. *Exp. Cell. Res.* **19**, 35—50 (1960).
- GALL, J. G.: Small granules in the amphibian oocyte nucleus and their relationship to RNA. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 393—396 (1956).
- GILMOUR, J. R.: The normal histology of the parathyroid glands. *J. Path. Bact.* **48**, 187—222 (1939).
- GRAU, H., u. H.-D. DELLMANN: Über tierartige Unterschiede der Epithelkörperchen unserer Haussäugetiere. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **64**, 192—214 (1958).
- GRAUMANN, W.: Untersuchungen zum zytochemischen Glykogennachweis. 1. Mitt. Chemische Fixation auf Alkoholbasis. *Acta histochem. (Jena)* **4**, 29—40 (1957).
- Untersuchungen zum zytochemischen Glykogennachweis. 2. Mitt. Chemische Fixation auf Pikrinsäurebasis. *Histochemie* **1**, 97—108 (1958/59).
- , u. W. CLAUS: Untersuchungen zum zytochemischen Glykogennachweis. 3. Mitt. Versuche zum Diastasetest. *Histochemie* **1**, 241—246 (1958/59).
- GREEP, R. D.: The physiology and chemistry of the parathyroid hormone. In: *The hormones* (edit.: G. PINCUS and K. V. THIMANN), Vol. I. New York: Academic Press Inc. Publishers 1948.
- , and A. D. KENNY: Physiology and chemistry of the parathyroids. In: *The hormones* (edit.: G. PINCUS and K. V. THIMANN), Vol. III. New York: Academic Press Inc. Publishers 1955.
- GROSS, J.: The dynamic cytology of the thyroid gland. *Int. Rev. Cytol.* **6**, 265—288 (1957).
- HAGUENAU, F.: Significance of ultrastructure in virus-induced tumors. *National Cancer Inst. Monogr.* No 4, pp. 211—249, U. S. Department of Health, Education and Welfare 1960.
- HALE, J. A.: The histochemistry of polysaccharides. *Int. Rev. Cytol.* **6**, 193—263 (1957).
- HALL, A. D.: The fine structure of the Paneth cell. *J. Anat. (Lond.)* **92**, 268—277 (1958).
- HAMPERL, H.: Über das Vorkommen von Onkocyten in verschiedenen Organen und ihren Geschwülsten (Mundspeicheldrüsen, Bauchspeicheldrüse, Epithelkörperchen, Hypophyse, Schilddrüse, Eileiter). *Virchows Arch. path. Anat.* **298**, 327—375 (1937).
- HARA, J., and A. FUJII: Histochemical studies of the parathyroid gland of the rat during various developing stages. *Kaibôgaku Zasshi (Tokyo)* **35**, 435—436 (1960).
- HERTL, M.: Zum Nukleolus-Problem. *Z. Zellforsch.* **46**, 18—51 (1957).
- HIRSCH, G. C.: Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen. Mit einem Exkurs über Ergastoplasma und Golgi-Körper. *Naturwissenschaften* **47**, 25—35 (1960).
- HOLTZ, F., u. W. PONSOLD: Das Hormon der Nebenschilddrüsen. In *R. AMMON u. W. DIRSCHERL, Fermente, Hormone, Vitamine*, Bd. II. Stuttgart: Georg Thieme 1960.

- HORSTMANN, E., u. A. KNOOP: Zur Struktur des Nucleolus und des Kernes. *Z. Zellforsch.* **46**, 100—107 (1957).
- ITO, T.: Über einschlußhaltige Zellen im Thymus des Goldhamsters. *Z. Zellforsch.* **49**, 739—747 (1959).
- KLUG, H.: Über die funktionelle Bedeutung der Feinstrukturen der exokrinen Drüsenzellen (Untersuchungen an Euplanaria). *Z. Zellforsch.* **51**, 617—632 (1960).
- LEVER, J. D.: Physiologically induced changes in adrenocortical mitochondria. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 313—318 (1956a).
- The subendothelial space in certain endocrine tissues. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 293—296 (1956b).
- Fine structural appearances in the rat parathyroid. *J. Anat. (Lond.)* **91**, 73—81 (1957).
- Cytological appearances in the normal and activated parathyroid of the rat. A combined study by electron and light microscopy with certain quantitative assessments. *J. Endocr.* **17**, 210—217 (1958).
- L'HEUREUX, M. V., and P. MELIUS: Differential centrifugation of bovine parathyroid tissue. *Biochim. biophys. Acta* **20**, 447—448 (1956).
- LUSE, S. A.: Electron microscopic observation of the central nervous system. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 531—542 (1956).
- MARNAY, C., et M. PRELOT: Recherches sur la nature des extraits parathyroïdiens actifs sur la calcémie du chien et du lapin. *Arch. Sci. physiol.* **11**, 77—86 (1957).
- NETTER, H.: Theoretische Biochemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- NILSSON, O.: Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influences. 2. Early effect of estrogen administered to spayed animals. *J. ultrastruct. Res.* **2**, 73—95 (1958).
- PALAY, S. L., and G. E. PALADE: The fine structure of neurons. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 69—88 (1955).
- PEARSE, A. G. E.: Histochemistry. London: J. & A. Churchill 1960.
- PEASE, D. C.: The basement membrane: substratum of histological order and complexity. In: 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Verhandlungen Bd. II. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- PEYROT, A.: Il metodo del congelamento-sostituzione nella ricerca istologica ed istochimica. II. Uso di una miscela alcool-formolo-acetica come disidratante. *Boll. Zool. (Torino)* **23**, 449—456 (1956).
- PLANEL, H., A. GUILHEM et A. DUPRE: Contribution à l'étude histochemique de la colloïde cortico-surrénalienne. *Ann. Histochim.* **3**, 117—126 (1958).
- RAOUL, Y., C. MARNAY et M. PRELOT: Extraction à partir des parathyroïdes d'une substance non azotée active sur la calcémie. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **240**, 1151—1153 (1955).
- RASMUSSEN, H.: The nature and properties of the parathyroid hormone. 1st Internat. Congr. of Endocrinology, Advance Abstracts of Symposium Lectures and Round Table Discussions. *Acta endocr. (Kbh.) Suppl.* **50**, 105—108 (1960).
- , and R. WESTALL: Chemical nature of parathyroid hormone. *Nature (Lond.)* **180**, 1429 (1957).
- RHODIN, J., and T. DALHAMN: Electron microscopy of the tracheal mucosa in rat. *Z. Zellforsch.* **44**, 345—412 (1956).
- RIS, H.: Die Feinstruktur des Kerns während der Spermiogenese. In: Chemie der Genetik. 9. Kolloquium der Ges. für Physiol. Chemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München: Leibniz 1948.
- ROSSMANN, I.: The decidual reaction in the rhesus monkey. I. The epithelial proliferation. *Amer. J. Anat.* **66**, 277—365 (1940).
- RUCART, G.: Classification et valeur fonctionnelle des cellules parathyroïdiennes des Mammifères. *Arch. anat. micr. (Paris)* **38**, 1—37 (1949).
- Hyperplasie parathyroïdienne expérimentale par hypervitaminose D₂. Interprétation physiologique. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **145**, 342—344 (1951).
- Modifications des parathyroïdes sous l'influence de la castration. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **153**, 1100—1102 (1959).
- SANDRITTER, W., K. FEDERLIN u. D. GERATZ: Zur Morphologie und Funktion der Epithelkörperchenzellen. I. Quantitative und qualitative histochemische Untersuchungen an Epithelkörperchen von Ratten. *Frankfurt. Z. Path.* **66**, 290—318 (1955).

- SCHIEBLER, T. H., u. A. KNOOP: Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Rattenplazenta. *Z. Zellforsch.* **50**, 494—552 (1959).
- SOMMERS, C. S., and T. L. YOUNG: Oxyphil parathyroid adenomas. *Amer. J. Path.* **28**, 673—689 (1952).
- SOPELO, J. R.: An electron microscope study on the cytoplasmic and nuclear components of rat primary oocytes. *Z. Zellforsch.* **50**, 749—765 (1959).
- STOCKENIUS, W., u. J. KRACHT: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Langerhansschen Inseln der Ratte. *Endokrinologie* **36**, 135—145 (1958).
- THIEL, A.: Mitochondrien — Ergebnisse und Probleme. *Dtsch. med. Wschr.* **84**, 2010, 2038—2045 (1959).
- TONUTTI, E.: Normale Anatomie der endokrinen Drüsen und endokrine Regulation. In KAUFMANN'S Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. I/2. Berlin: Walter de Gruyter & Co. 1956.
- TREMBLAY, G., and A. G. E. PEARSE: A cytochemical study of oxydative enzymes in the parathyroid oxyphil cell and their functional significance. *Brit. J. exp. Path.* **40**, 66—70 (1959).
- TRIER, J. S.: The fine structure of the parathyroid gland. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 13—22 (1958).
- WARTENBERG, H.: Die Spezifität des o-Diacetylbenzols bei seiner Anwendung auf freie Aminogruppen von Proteinen und Aminosäuren. *Acta histochem. (Jena)* **3**, 145—163 (1956/57).
- WATSON, M. L.: The nuclear envelope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 257—270 (1955).
- Further observations on the nuclear envelope of the animal cell. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 147—156 (1959).
- WERNLY, M., et C. BERDJIS-CHAMSI: Les parathyroïdes humaines. Contributions à l'étude des hyperplasies et des adénomes. *Helv. med. Acta Suppl. Nr. 19* (1946).
- WEYGAND, F., H. WEBER, E. MAEKAWA u. G. EBERHARDT: Über den Nachweis von aliphatischen und aromatischen Aminen mit o-Diacetylbenzol. *Chem. Ber.* **89** (II), 1994—1999 (1956).
- WEYMOUTH, R. J.: The cytology of the parathyroid glands of the rat after bilateral nephrectomy, administration of parathyroid hormone and hypophysectomy. *Anat. Rec.* **127**, 509—525 (1957).
- WISCHNITZER, S.: An electron microscope study of the nuclear envelope of Amphibian oocytes. *J. ultrastruct. Res.* **1**, 201—222 (1958).
- WOOLNER, L. B., F. R. KEATING and B. M. BLACK: Tumors and hyperplasia of the parathyroid glands. *Cancer (Philad.)* **5**, 1069—1088 (1952).
- YANG, M. F.: Effects of pregnancy and childbed upon the glycogen contents in the parathyroid gland of the rat. *Kaibôgaku Zasshi (Tokyo)* **35**, 436 (1960).

RAINER LANGE,

Anatomisches Institut der Universität, Kiel, Neue Universität, Eingang F 1

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. med. W. BARGMANN)

ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE,
HISTOCHEMISCHE UND EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
AN DEN BRUNNERSCHEN DRÜSEN DES KANINCHENS*

Von
HELMUT WOLFF**

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Dezember 1960)

Inhalt	Seite
Einleitung	829
Material und Methode	832
Befunde	833
a) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung	833
Embryonalzeit S. 833. — Postnatale Entwicklung S. 836.	
b) Morphologie und Histochemie der Brunnerschen Drüsen des erwachsenen Kaninchens	839
Morphologische Beobachtungen S. 839. — Histochemische Beobachtungen S. 842.	
c) Experimentelle Untersuchungen	844
Beobachtungen bei Hunger und anschließender Fütterung S. 844. — Pilokarpin-Reizung S. 845. — Natriumoleat-Reizung S. 847.	
Diskussion	848
Zusammenfassung	853
Literatur	854

Einleitung

Die Brunnerschen Duodenaldrüsen des Menschen und der Mehrzahl der Säuger sind bei unterschiedlicher Ausdehnung und Drüsenform (PATZELT 1936) aus jeweils gleichartigen Zellen aufgebaut. Die vielleicht markanteste Ausnahme findet sich beim Kaninchen, das neben den in den Duodenaldrüsen aller Säuger vorkommenden Schleimzellen sog. „dunkle“ Zellen aufweist. Diese werden seit SCHWALBE (1872) wegen ihrer „feineren Struktur und Anordnung“ von zahlreichen Autoren (KUCZYNSKI 1890, TSCHASSOWNIKOW 1928 a, b, PATZELT 1933, HAASE 1938, BURKL 1950, HOSODA 1956) den exokrinen Pankreaszellen gleichgesetzt.

Vorliegende Arbeit will dieser Merkwürdigkeit, die beim Feldhasen gleichfalls beobachtet wurde (TSCHASSOWNIKOW 1928 b) und die bei Pferd, Esel und Schwein (TEHWER 1929, BURKL 1950) eine gewisse Parallele findet, durch das Studium der Entwicklungsgeschichte dieses Organs beim Kaninchen nachspüren. Es sollen histochemische Untersuchungen an undifferenzierten und ausgereiften Brunnerschen Drüsenzellen durchgeführt werden. Wir hoffen, auf diese Weise neue Gesichtspunkte auch für die Frage nach der morphogenetischen und funktionellen Verwandtschaft zwischen den Duodenaldrüsen und dem phylo- und ontogenetisch älteren Pankreas liefern zu können. Im einzelnen gilt es, die Wurzel der beiden

* Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.
** Unter Leitung von Prof. Dr. med. T. H. SCHIEBLER.

Zelltypen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens zu bestimmen und zu klären, zu welchem Zeitpunkt und auf welche Weise ihre Differenzierung erfolgt. Zur Lösung dieser Probleme sind neben bekannten färberisch-histologischen Verfahren neu entwickelte, dem einwandfreien Nachweis der einzelnen Drüsenzelltypen dienliche histochemische Methoden zu erproben. Um ferner ein Licht auf die Funktion der beiden Zellarten zu werfen, soll in Experimenten an ausgewachsenen Tieren versucht werden, jeden Zelltyp gesondert zu reizen.

Die Entwicklung der Brunnerschen Drüsen des *Kaninchens* ist bisher nicht bekannt. Es fehlen genauere Angaben über die Differenzierung des Kaninchendarms im letzten Drittel der etwa 30tägigen Embryonalzeit. In den ersten 20 Tagen nach der Befruchtung werden von der Duodenalwand lediglich Teile der Mukosa und der Muskularis gebildet (MINOT und TAYLOR 1905). Letztere zeigt zirkuläre und längs verlaufende Schichten. Anlagen Brunnerscher Drüsen fehlen. Demgegenüber ist zu dieser Zeit die Pankreasentwicklung weit fortgeschritten: die am 14. Tag beginnende Vereinigung von ventraler und dorsaler Pankreasanlage ist nahezu abgeschlossen.

Zeitlich ganz anders verhält sich die genauer erforschte Entwicklung der Brunnerschen Drüsen des *Menschen*. Nach PATZELT (1931, 1936) sprossen im 3. Monat aus dem Kryptengebiet hohle, sich verzweigende Schläuche aus etwas helleren, schwach basophilen Zellen in die Submukosa vor, so daß sie sich in der 14. Woche in abnehmender Größe über das ganze Duodenum erstrecken. Durch interstitielles Wachstum und Aussprossung neuer Seitenäste breiten sie sich bis zum Ende des 6. Monats durch die gesamte Submukosa aus und verschmelzen zu einem zusammenhängenden Lager. Schleim kann in den Drüsenzellen von der 18. Woche an mit BESTs Karmin, Muzhämaginein und Molybdänhämatoxylin nachgewiesen werden. Ihr feinerer Bau zeigt von der 20. Woche an das typische Aussehen.

Besser als über die Entwicklung sind wir über die Ausdehnung und den Bau der Brunnerschen Drüsen des *ausgewachsenen Kaninchens* orientiert. Nach HOSODA (1956) u. a. liegen diese Organe in der Submukosa des ganzen 30 bis 40 cm langen Duodenum, das beim Kaninchen vom Pylorus bis zur Einmündung des Pankreasganges in den Darm reicht. Verglichen mit den Duodenaldrüsen anderer Nager sind die Brunnerschen Drüsen beim Kaninchen stark entwickelt. Ähnlich denen des Menschen und anderer Säuger haben sie einen tubulo-alveolären Bau. Als Besonderheit sitzen den verzweigten, mit seitlichen Ausbuchtungen versehenen, von „hellen“ Zellen gebildeten Schleimdrüsentubuli (SCHWALBE 1872, u. a.) kappenförmig Endstücke aus „dunklen“ Zellen auf, eine Anordnung, die schon CASTELLANT (1898) an die gemischten Speicheldrüsen erinnerte. Allerdings gehört nach HAASE (1938), die aus Serienschnitten ein Drüsenendbäumchen graphisch rekonstruierte, nicht zu jedem Schleimtubulus ein dunkles Endstück. Außerdem kommen Komplexe dunkler Endstücke vor, die nach M. HEIDENHAIN (1921) als Di- bzw. Polymeren zu bezeichnen und als „fixierte Teilungszustände“ zu deuten sind.

Die Bezeichnung der beiden Zellarten als „hell“ und „dunkel“ gründet sich auf ihr Erscheinungsbild bei Routinefärbungen. In Ermangelung einer besseren Benennung werden auch wir sie in unserer Arbeit verwenden. Wir sind uns allerdings bewußt, daß sich das Zytoplasma der beiden Zellarten bei anderen Färbe-

methoden genau entgegengesetzt zu den gewählten Bezeichnungen verhalten kann. Dennoch glauben wir diese Benennung den z. T. üblichen Namen „mukoid“ bzw. „mukös“ für die hellen und „serös“ bzw. „albuminös“ für die dunklen Zellen vorziehen zu müssen, da sie sich nicht auf noch umstrittene oder unbewiesene Eigenschaften der Zellen beziehen.

Wichtig für den entwicklungsgeschichtlichen Teil unserer Untersuchung ist die Feststellung, daß das *Zahlenverhältnis* zwischen den hellen und dunklen Drüsenanteilen in den verschiedenen Duodenalabschnitten wechselt (SCHWALBE 1872, KUCZYNSKI 1890, CASTELLANT 1898, TSCHASSOWNIKOW 1928b, HAASE 1938). Nach HOSODA (1956), der das Duodenum zentimeterweise untersuchte, ist die Zahl der dunklen Endstücke absolut und relativ im mittleren Drittel des Duodenum am größten und nimmt nach proximal bedeutend, nach distal allmählich ab.

Eine sichere Zuordnung der beiden Zellarten der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens zu bekannten Drüsenzelltypen ist bisher nicht gelungen. Insbesondere gilt dies für die *hellen Zellen*, die bald zum mukösen, bald zum mukoiden Typ gerechnet wurden. Nach BURKL (1953) ist allerdings eine derartige Einteilung weder zweckmäßig noch ausreichend (GRAUMANN 1960). Die Färbeergebnisse von HAASE (1938) bestätigen dies. In den hellen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens sollen die zum Nachweis des mukoiden Schleims typischen Methoden mit BESTs Karmin und Molybdänhämatoxylin völlig negativ, die Färbung mit Muzikarmin für mukösen Schleim, entgegen CASTELLANT (1898), FLOREY und HARDING (1934), BOERNER-PATZELT (1942) und BURKL (1950), nahezu negativ ausfallen (vgl. TSCHASSOWNIKOW 1928 b).

Es ist keineswegs berechtigt, die hellen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens bezüglich ihres Sekretes den Schleimzellen der Duodenaldrüsen anderer Tiere gleichzusetzen. Nach den derzeitigen Untersuchungsergebnissen verhält sich färberisch der Schleim nahezu jeder Brunnerschen Drüse anders. Diese tierartigen Unterschiede sind im Gegensatz zu den einander teilweise widersprechenden Untersuchungsergebnissen beim Kaninchen (s. o.) nicht nur auf differente Untersuchungsmethoden zurückzuführen. Ob dem allerdings funktionelle Unterschiede zugrunde liegen, ist trotz einiger biochemischer Hinweise ungeklärt.

Einheitlicher sind die Anschauungen über die *dunklen Zellen*. Wurden sie auch gelegentlich für funktionell bedingte Modifikationen der hellen Zellen (BENTKOWSKI 1876, DEKHUIZEN 1898, ANILE 1903, BOGOLOMETZ 1902) oder für Zellen *sui generis* (CASTELLANT 1898, BENSLEY 1903) gehalten, so gilt doch im allgemeinen die Vorstellung, daß sie den exokrinen Pankreaszellen gleichzusetzen sind. Für letztere auch heute gültige Anschauung sprechen vor allem beiden Zellarten gemeinsame zytologische Kennzeichen, nämlich das Vorkommen eines basal gelegenen, intensiv basophilen Ergastoplasmas und die apikal angereicherten Zymogenkörnchen. In gleichem Sinne ist das diesen Zellen gemeinsame Vorkommen einer histochemisch nachweisbaren spezifischen Lipase (GOMORIS Tween-Technik) zu werten (MARTIN 1953, 1954). Die Zymogenkörnchen beider Zellarten zeigen die gleiche, weitgehend tryptophanspezifische Xanthhydrol-Reaktion (LILLIE 1957).

Offenbar bestehen zwischen den exokrinen Pankreaszellen und den dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens auch funktionelle Überein-

stimmungen. Hierfür spricht z. B. die Beobachtung, daß es nach Unterbindung des Pankreasganges zu einer elektiven Hypertrophie der dunklen Zellen in den Brunnerschen Drüsen kommt (TSCHASSOWNIKOW 1928 a, HAASE 1938). Ob allerdings die dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen stets die Aufgaben des beim Kaninchen auffällig kleinen Pankreas erfüllen und sie notfalls ganz übernehmen können, ist eine offene Frage. Weder im Sekret der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens noch in dem anderer untersuchter Spezies konnten bisher mit Sicherheit Verdauungsfermente nachgewiesen werden (GROSSMAN 1958, Lit.). Dagegen enthält der Pankreassaft etwa 14 verschiedene Fermente (vgl. HIRSCH 1958).

In den beiden Zellarten der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens sind während ihrer Funktion charakteristische Veränderungen beobachtet worden, z. B. bei Hunger und nach Fütterung (TSCHASSOWNIKOW 1928 b, HOSODA 1956), nach Reizung durch Einbringen von Säuren oder Magensaft in das Duodenum (FLOREY und HARDING 1934, FLOREY 1955). Beim Hungern kommt es in den dunklen Zellen zu einer starken Vermehrung der Zymogengranula, während der Verdauung dagegen zu einer Abnahme bzw. zu völligem Schwund. Weniger genau ist das Verhalten der Mitochondrien, des Golgi-Netzes und des Kerns in diesen Zellen beschrieben (HOSODA 1956); es wurde aber darauf hingewiesen, daß bei Hunger die Veränderungen in den dunklen Zellen parallel mit denen in den exokrinen Pankreaszellen laufen, eine Beobachtung, die eine weitere Stütze für die Hypothese der Identität beider Zellen darstellt.

Besonders deutlich sind die funktionellen Veränderungen in den hellen Zellen erkennbar. Nach Sekretausschüttung sind sie breiter als hoch, ihr Kern ist rund bis ovoid und liegt im basalen Drittel. Während der Sekretbereitung wird er flach oder schüsselförmig gegen die basale Zellwand gepreßt. Die Zelle ist vergrößert, ihr apikaler Teil wölbt sich etwas gegen das Lumen vor. Der Schleim wird zuerst in Form von Körnchen im supranukleären Bereich, in räumlicher Beziehung zum Golgi-Netz — nach elektronenmikroskopischen Beobachtungen von MOE (1960) an der Katze der möglichen Bildungsstelle des Sekretes — darstellbar (TSCHASSOWNIKOW 1928 b).

Insgesamt ergeben die am Duodenum des Kaninchens durchgeführten Experimente, daß beide Zellarten im Dienst der Verdauung stehen. Eine noch ungeklärte Frage ist, ob helle und dunkle Zellen stets gleichzeitig tätig sind, oder ob jede Zellart unter Umständen gesondert in Funktion treten kann.

Material und Methode

Untersucht wurden 106 Kaninchen verschiedenen Alters und verschiedener Rassen. Bei 34 Tieren handelte es sich um *Embryonen* von 7 trächtigen Kaninchen mit Scheitel-Steiß-Längen (SSL) von etwa 24, 25, 30, 45, 78, 85 und 91 mm (Gewicht 1,4 bis 39 g). 44 *Jungtiere* aus 11 Würfen wurden in einem Alter von $\frac{1}{2}$ Std bis 12 Wochen nach der Geburt untersucht (SSL 70—190 mm, Gewicht 30—330 g). Zwischen Geburt und dem 23. Lebenstag standen für jeden Tag mindestens 1 Tier, für den ersten Tag jedoch 8, für den 2., 4., 5., 13., 16., 17. und 19. Tag je 2 und für den 6., 12. und 15. Tag je 3 Tiere zur Verfügung. — 14 *erwachsene Tiere* wurden *unbelastet*, 14 weitere *nach Behandlung* untersucht. Letztere bestand für 4 Tiere in 4tägigem Hunger und Durst. Die Tötung erfolgte im Hungerzustand bzw. 1 oder 2 Std nach Fütterung oder 1 Std nach subkutaner Injektion von Pilokarpin (30 mg je kg Körpergewicht). 5 weitere, unbehandelte Tiere, wurden $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2 und 4 Std nach Pilokarpininjektionen (Dosierung wie oben) untersucht. Drei Tieren wurde in Narkose

wäßrige Natriumoleatlösung (10 ml 5%ig) in das Duodenum gespritzt (vgl. BECKER 1957). Zur Narkose wurden 4 ml einer 25%igen Urethanlösung je kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Bei 2 Tieren erfolgte die Gewebsentnahme nach jeweils 1½ und 3 Std, bei einem weiteren nach 6 Std. Zur Kontrolle wurde bei 2 narkotisierten Kaninchen die Bauchhöhle operativ eröffnet und Gewebe in gleichem Zeitabstand wie bei den Versuchstieren ohne vorherige Natriumoleatreizung entnommen.

Die Tötung der Tiere erfolgte durch Nackenschlag und Dekapitation, in einigen Fällen durch Thiogenalinjektion.

Das lebensfrische Gewebe wurde in der Mehrzahl der Fälle in Bouin, Regaud (ROMEIS 1948) und gepuffertem Formol-Alkohol (BLOOM und KELLY 1960) fixiert. Je nach den Erfordernissen wurden auch Susa, Schaffer, Formol 1:10, Zenker, Kaliumbichromat, Azeton, Carnoy, Stieve, Formol-Eisessig-Alkohol, Altmann, isotonische Osmiumsäure verwendet. Bei den Embryonen und den jüngsten Tieren wurde das Duodenum in toto, sonst in kleinen Stückchen aus verschiedenen Duodenalabschnitten eingelegt. Paraffineinbettung, Schnitt-dicke 5 µ. Unfixiertes Gewebe wurde im Kryostaten 15 µ dick geschnitten.

Regelmäßig ausgeführte Färbungen und Reaktionen: Hämalan-Eosin, Perjodsäure-Schiff-Reaktion, Astrablaufärbung bei pH 0,2 (BLOOM und KELLY 1960), metachromatische Reaktion mit N,N'-Diäthyl-6,6'-dichlorpseudocyaninchlorid zur Darstellung von Zymogen-körnchen nach SCHIEBLER (unveröffentlicht), Methylenblau-Pufferfärbung bei pH 3,2; 3,6; 4,1 und 4,8.

Außerdem wurden folgende Färbungen und Reaktionen verwendet: Azan, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN, GOLDNER-KLÜVER, Elastikafärbung mit Resorcinfuchsin, Chromalaunhämatoxylin sowie Paraldehydfuchsin mit und ohne Voroxydation, Sudanschwarz B, Ninhydrin-Schiff-Reaktion (LIPP 1954/59), SH-Gruppen-Nachweis nach BARNETT und SELIGMAN (1952), Alcianblaumethoden nach PEARSE (1% wäßrig, 30 sec), nach LISON (0,5% in 0,5% Essigsäure, 10 min) und nach MOWRY (0,1% in 3% Essigsäure, 10 min) (zit. nach WALLRAFF 1959), Toluidinblau (Toluidine Blue 0; a) 0,01% wäßrig, 1—10 min; b) in Verdünnungsreihe nach GRAUMANN (1961) 1:50000 bis 1:1 Million, 24 Std).

Zur Kontrolle wurden einige Schnitte vor der Methylenblau-Pufferfärbung mit Ribonuklease, andere vor der PAS-Reaktion mit Diastase behandelt. Es wurde versucht, die Astrablaufärbung mit Chromsulfat zu blockieren.

Astrablaufärbung: Carboanhydrase (nach HÄUSLER 1958), Bernsteinsäuredehydrogenase (nach NEUMANN und KOCH 1953) und alkalische Phosphatase (nach GOMORI 1939).

Phasenkontrastmikroskopie: a) Fixierung in isotonischer Osmiumsäure; Methacrylat-Einbettung; Herstellung von 1—2 µ dicken Schnitten auf einem Porter-Blum-Mikrotom, Eindecken in Karion F oder Euparal. b) Regaud-Fixierung; Paraffineinbettung; Eindecken der entparaffinierten, ungefärbten Schnitte in die Einschlußmittel L 15 oder L 25 (Fa. Zeiss nach v. HIRSCH 1952/54).

Befunde

a) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung

Die Entwicklung der Brunnerschen Drüsen beginnt beim Kaninchen erst unmittelbar vor der Geburt. Die Einordnung der sich hierbei abspielenden Vorgänge in ein Gesamtbild ist ohne Kenntnis der wichtigsten Daten des bisher unbekannten Zeitplanes der Duodenalhistogenese unmöglich. Es erschien daher sinnvoll, auch die Stadien der Entwicklung des Kaninchenduodenum zu berücksichtigen, die der Drüsenbildung vorangehen.

Embryonalzeit. Um die Mitte der etwa 30 Tage dauernden intrauterinen Entwicklung, bei Embryonen von etwa 24 mm SSL, besteht das Duodenalepithel aus 2—3 ineinander verzahnten Schichten schlanker, zylindrischer Zellen mit hellem Zytoplasma. Eine Abgrenzung dieser Zellen gegeneinander ist lichtmikroskopisch kaum möglich. Ihre dem Lumen zugekehrten Oberflächen treten dagegen deutlich hervor. Die an der Basis der Epithelzellen gelegenen Kerne sind sehr groß und bilden mehrere Reihen. Jeder Kern enthält in der Regel zwei Nukleolen und ein

reiches Chromatingerüst. Häufig sind Mitosen zu beobachten. Das Epithel ist gegen die umgebende, mehr als doppelt so dicke Schicht mesenchymaler Zellen von unregelmäßiger Anordnung scharf abgegrenzt. Die sehr zahlreichen Kerne dieses Gewebes sind von unterschiedlicher Form und Struktur, doch stets bedeutend kleiner als die der Epithelzellen. Mitosen sind auch hier häufig.

Bei einer Gruppe von Embryonen der *SSL von etwa 25 mm* haben sich beide Anteile der Darmwand in typischer Weise weiterdifferenziert: die Dicke des Epithels ist infolge unterschiedlichen Wachstums ungleichmäßig geworden, so daß das Darmlumen nun sternförmig aussieht. Die entstandenen Epithelverdickungen

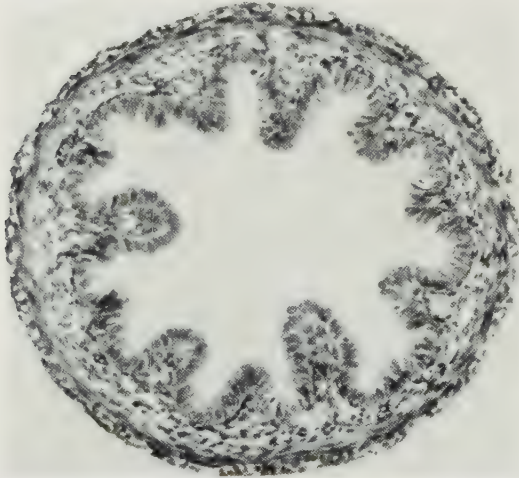


Abb. 1. Querschnitt durch den Anfangsteil des Duodenum eines Kaninchenembryos von 45 mm SSL. Fast überall einschichtiges Epithel, Zotten sind deutlich, Krypten fehlen. Beide Schichten der Muskularis sind ausgebildet. Bouin, HE., Vergr. 160fach

können, wie die weitere Entwicklung beweist, als erste Zottenanlagen angesehen werden. Die Grenze zwischen Epithel und Mesenchym ist weiterhin scharf und glatt. Zahlreiche Mitosen in allen Geweben der Darmwand deuten auf eine stürmische Entwicklung in dieser Periode. Im Epithel ist die regelmäßige Anordnung der Zellen weitgehend verlorengegangen. Das dem Epithel benachbarte Mesenchym ist locker, sein Aufbau sehr unregelmäßig. Nach außen verdichtet und ordnet es sich zu inneren ringförmigen und äußeren längs verlaufenden Zügen.

Bei Embryonen einer *SSL von rund 45 mm* ist das Duodenalepithel bereits einschichtig (Abb. 1). Seine Zellen stehen so eng, daß die basal gelegenen Kerne nicht immer in einer Reihe Platz haben, sich gegenseitig verdrängen und deformieren. Die Zottenanlagen sind in diesem Stadium zahlreich und klar erkennbar: sie besitzen ein mesenchymales Stroma mit reichlich Blutgefäßen. An ihren Spitzen sind die Epithelzellen besonders eng zusammengedrängt; die Grenze zu den darunter befindlichen Mesenchymknospen ist manchmal undeutlich. Die Einsenkungen zwischen den Zotten sind als Kryptenanlagen anzusprechen, da sich ihre Epithelzellen durch hellere Färbung auszeichnen. Bei der PAS-Reaktion fallen diese Zellen durch einen positiv reagierenden apikalen Saum auf. Becherzellen und Bürstensaum des Epithels sind im PAS-Präparat noch nicht sichtbar. Die beiden Schichten der Muskularis sind inzwischen gut erkennbar geworden.

Deutlicher sind die Kryptenanlagen im Duodenum von Embryonen mit einer *SSL von rund 78 mm*, etwa 2 Tage vor der Geburt, ausgeprägt. Ihre Epithelzellen haben ein helleres Zytoplasma und stärker abgerundete Kerne als die Zottenepithelzellen. Der beschriebene PAS-positive Saum ist in den Kryptenepithelzellen regelmäßig zu finden. In den meisten Fällen vollzieht sich der Wechsel zwischen Zotten- und Kryptenepithel ohne Übergang. Einzelne Ausläufer der

Kryptenanlagen, die vielfach Seitenknospen tragen, können sich bis zur Muscularis erstrecken. Bei einigen Tieren scheint es sich hierbei um die frühesten Anlagen der Brunnerschen Drüsen zu handeln (Abb. 2). Das Gebiet der späteren Submukosa

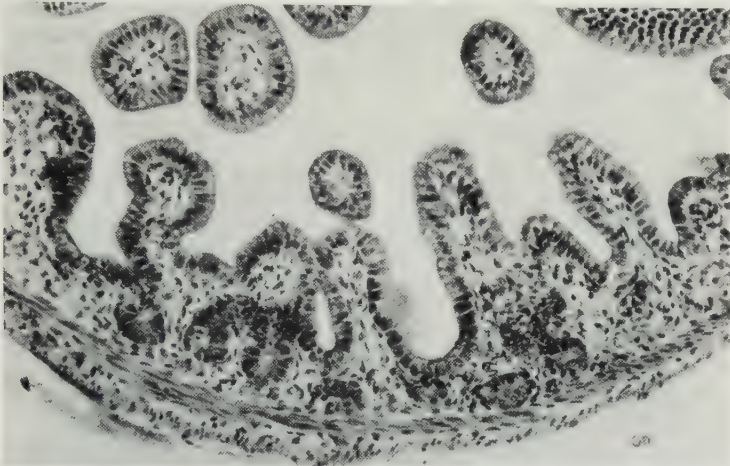


Abb. 2. Querschnitt durch das Duodenum (erstes Drittel) eines Kaninchenembryo von 78 mm SSL. Fortgeschrittene Zottenentwicklung; Krypten, deren Ausläufer Lumina zeigen und als Anlagen Brunnerscher Drüsen gelten können. Bouin, HE., Vergr. 160fach

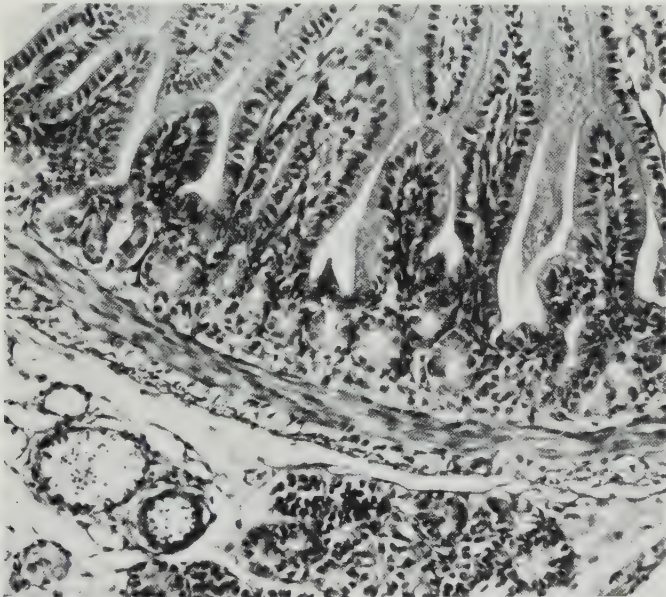


Abb. 3. Querschnitt durch das Duodenum eines $\frac{1}{2}$ Tag alten Kaninchens; Pylorusnähe. Zahlreiche Brunnersche Drüsen unterhalb des Kryptengebietes. Am unteren Bildrand Pankreasgewebe. Bouin, HE., Vergr. 160fach

ist jedoch relativ schwach entwickelt und noch nicht durch eine Muscularis mucosae nach innen begrenzt. An den plump geformten Zotten sind Teilungs- und Knospungsvorgänge sichtbar. Ihr Stroma ist besonders im Spitzenbereich auffallend locker gebaut. Ein Stäbchensaum und vereinzelte Becherzellen, die sich

z. T. erst im Beginn ihrer Sekretionstätigkeit befinden, sind nun durch die PAS-Reaktion typisch darstellbar.

Etwa einen Tag vor der Geburt — *SSL der Embryonen rund 85 bzw. 91 mm* — sind die oben beschriebenen Ausläufer der Krypten tiefer in die etwas stärker entwickelte Submukosa eingesproßt. Besonders in Präparaten aus dem pylorus-nahen Duodenalabschnitt sind zahlreiche Anschnitte dieser Ausläufer zu erkennen. Sie zeigen im Gegensatz zu den früheren Stadien deutliche Lumina. Dadurch setzen sie sich klar von den englumigen Krypten ab. Nach Form und Aus-

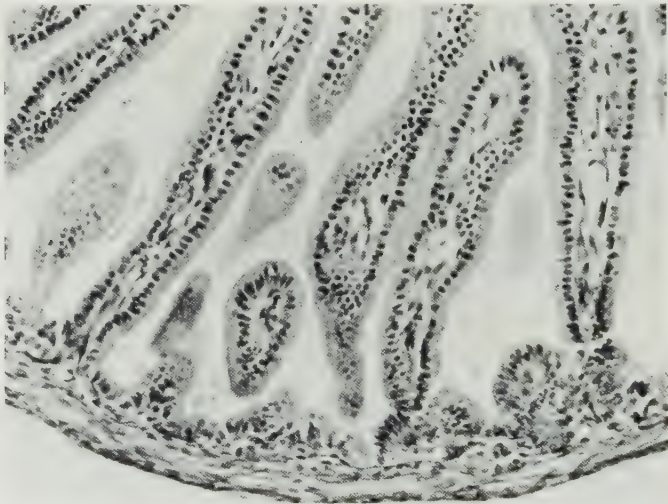


Abb. 4. Querschnitt durch den letzten Teil des gleichen Duodenum wie Abb. 3. Erheblich geringer differenzierte Darmwand ohne Brunnersche Drüsenanlagen. Bouin, HE., Vergr. 160fach

dehnung handelt es sich hier eindeutig um Anlagen der Brunnerschen Drüsen. Die Mehrzahl ihrer Zellen gleicht denen des Kryptenepithels. Einige zeigen jedoch ein deutlich helleres Zytoplasma. Als Einzelfall fanden wir phasenkontrastmikroskopisch unter der apikalen Zelloberfläche einiger Zellen der pylorusnahen Drüsenanlage einige wenige Zymogenkörnchen.

Postnatale Entwicklung. Beim *neugeborenen Kaninchen* beträgt die Länge des Duodenum — vom Pylorus bis zur Einmündung des Pankreasganges — etwa 7—8 cm. Der Differenzierungsgrad nimmt von kranial nach kaudal in geringem Maße ab. Mäßige individuelle Unterschiede sind vorhanden. Sie sind zu erwarten, da die untersuchten Tiere aus verschiedenen Würfen stammen und nicht reinrassig sind. In der pylorusnahen Darmwand bilden die Anlagen der Brunnerschen Drüsen eine unzusammenhängende Schicht zwischen Kryptengrund und Muskularis (Abb. 3). Kaudal nimmt ihre Zahl, besonders gegen das Ende zu, erheblich ab (Abb. 4). Die Zellen in den Drüsenzellen sind etwas heller als die der Krypten, doch keineswegs immer von diesen eindeutig zu unterscheiden. Meist haben die Zellen der Drüsenanlagen im Gegensatz zu den zylindrischen der Krypten- und Zottenepithelzellen mehr kubische Form. Die für die Epithelzellen der Krypten typische apikale PAS-positive Zytoplasmaverdichtung ist in den Zellen der Drüsenanlagen schwach ausgebildet oder fehlt ganz. Die Lumenweite der Endstücke wechselt stark, ist aber meist deutlich gegenüber der der Krypten vergrößert.

Im Phasenkontrastmikroskop erscheint das Zytoplasma der Zotten- und Kryptenepithelzellen in allen Zellregionen gleichmäßig homogen bis feingranuliert. Der Stäbchensaum verliert sich in den Krypten. Das Sekret der Becherzellen, die im Gebiet der Zotten und Krypten sowie im Ausmündungsteil der Brunnerschen Schläuche häufig, in deren Endstücken seltener zu finden sind, tritt deutlich in Form von dunklen, groben Körnchen hervor. Das Zytoplasma der Brunnerschen Drüsenzellen erscheint in der Umgebung des basal gelegenen Kerns am hellsten; nur vereinzelt deuten sich lamelläre Ergastoplasmastrukturen an, die in Längsrichtung der Zelle oder konzentrisch zur Kernmembran orientiert sind. Oberhalb des Kerns stellt sich das Zytoplasma netzig-körnig dar, wobei es sich nach apikal zu einem dunklen Saum verdichtet.

Bei einer zu dieser Zeit noch geringen Zahl von Zellen — es handelt sich meist um solche, die am Ende eines Ganges nebeneinanderliegen —, finden sich Zymogenkörnchen, sehr dunkel, kräftig hervortretend, von etwa gleicher Größe und runder Form. Sie drängen sich apikal in einer schmalen Zone unmittelbar unter der Zelloberfläche zusammen; einzelne Zellen in Pylorusnähe enthalten bereits größere Mengen, so daß sich die Granula bis in den supranukleären Bereich erstrecken. Es wird also neben den regionalen, zwischen Anfangs- und Mittelteil des Duodenum beobachteten Unterschieden in der Menge der Drüsenschläuche ein solcher im Differenzierungsgrad erkennbar. Mit dem Auftreten der Zymogenkörnchen, die von diesem Zeitpunkt an regelmäßig in den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens nachweisbar sind, sind die „dunklen“ Zellen eindeutig gekennzeichnet. Die Benennung der Zellen als „dunkle“ ist zu diesem Zeitpunkt jedoch noch unzutreffend, da sie sich noch nicht mit basischen Farbstoffen anfärben. Im HE-Präparat sind sie nicht von denen der Krypten zu unterscheiden. Die Methylenblau-Pufferfärbung fällt negativ aus. „Helle“ Zellen sind zu diesem Zeitpunkt noch nicht erkennbar.

Einen Tag nach der Geburt beginnen sich in Pylorusnähe die Mesenchymzellen an einigen Stellen in Richtung der späteren Muscularis mucosae zu ordnen. Dieser Befund ist allerdings nur bei einem von zwei untersuchten Tieren deutlich. Die Zahl der Drüsenschläuche in der Submukosa hat sich vermehrt. Zahlreiche Mitosen in den Krypten und Brunnerschen Drüsen sind ein Ausdruck ihres starken Wachstums. Ein entscheidender Fortschritt in der Differenzierung der Drüsenzellen liegt dagegen nicht vor. Die PAS-Reaktion fällt uneinheitlich aus. Neben einigen ungefärbten Drüsenzellen reagieren viele apikal schwach positiv. Nicht selten findet man kräftig PAS-positiv reagierende Becherzellen in den Drüsenschläuchen. Einige Drüsenzellen enthalten vermehrt Zymogenkörnchen, die den apikalen Zellbereich bis in Kernnähe ausfüllen.

Auch am 2. und 3. Tag nach der Geburt ist die Muscularis mucosae im Duodenum noch nicht bei allen Kaninchen voll ausgebildet. Die Schicht der Brunnerschen Drüsen ist noch diskontinuierlich; die Lumina der Endstücke wechseln von eng bis sehr weit. Im Übergangsteil zwischen Krypten und Brunnerschen Drüsenschläuchen finden sich relativ viele Becherzellen. Zymogenkörnchenhaltige „dunkle“ Zellen sind häufig zu finden. Die Menge der Granula pro Zelle wechselt stark.

Am 4.—5. Tag nach der Geburt treten in Pylorusnähe erstmalig typische „helle“ Zellen auf. Sie liegen in einigen besonders weitlumigen Endstücken und

in den Drüsenausführungsgängen. Erkennbar sind sie an ihrem Sekret, dem Schleim, der zunächst oberhalb des Kerns in Form kräftig PAS-positiver Fäden und Körnchen auftritt. Daß es sich hierbei nicht um Glykogen handelt, beweist der negative Ausfall von Digestionsversuchen. Zellen, die mehr Schleim enthalten, zeigen ein locker angeordnetes, bis zur Zellspitze reichendes, dort verdichtetes PAS-positives Material. Schließlich sehen wir Elemente, deren Zelleib der Schleim zwischen Kern und Oberfläche dicht ausfüllt. In einigen Zellen dieser Art sind die Kerne etwas nach basal verlagert und leicht abgeflacht.

Von den hellen Zellen sind die Becherzellen auf Grund einer intensiveren PAS-Reaktion ihres Schleims zu unterscheiden. Das Becherzellensekret bildet einen Schleimpfropf, der apikal sehr dicht und homogen ist, sich aber nach basal in grobe, runde Körnchen auflöst. — Im Phasenkontrastmikroskop können die Becherzellen leicht mit den dunklen Zellen, die Zymogenkörnchen-haltig sind, verwechselt werden, da der Inhalt beider Zellen körnig erscheint. Jedoch enthalten die Becherzellen viel mehr Granula als die dunklen Zellen; sie sind bis zur Zellbasis hiermit ausgefüllt. Außerdem liegen die Becherzellen einzeln, die dunklen Zellen stets in Gruppen. Dies gilt auch für die schleimarmen Jugendformen der Becherzellen.

5 Tage nach der Geburt ist eine Muscularis mucosae im Anfangsteil des Duodenum bei allen untersuchten Tieren vorhanden, wenn auch bezüglich des Entwicklungsgrades individuelle Unterschiede bestehen. Weniger deutlich ist die Muscularis mucosae im mittleren Teil des Duodenum; sie besteht hier aus einzelnen Muskelzügen unregelmäßiger Anordnung. Offenbar befindet sie sich im Beginn ihrer Differenzierung.

Einzelne Brunnersche Drüsen sind zu diesem Zeitpunkt schon verzweigt. Die aus den Krypten ausgesproßten Gänge haben sich dichotomisch geteilt oder Seitenknospen gebildet. In manchen Gangsystemen, deren Zellen bereits weitgehend differenziert sind, liegt die für ausgewachsene Tiere charakteristische Verteilung der beiden Zelltypen vor. Die hellen Zellen finden sich in den längeren Drüsenschläuchen, die dunklen Zellen kappenartig in den End- oder Seitenknospen dieser Schläuche.

9 Tage nach der Geburt hat die Zahl der Brunnerschen Drüsen in der Submukosa weiter zugenommen. Die hellen Zellen, die im Anfangsteil des Duodenum überwiegen, sind nun auch im HE-Präparat erkennbar. Ihr Zytoplasma, das in einem umschriebenen supranukleären Bezirk verdichtet ist, wird bei allen Routinefärbungen so schwach getönt, daß die Bezeichnung „helle Zellen“ von jetzt an gerechtfertigt ist. Die Zellgrenzen werden schwach dargestellt. Die Kerne liegen im basalen Teil der Zellen, sind manchmal etwas abgeflacht und enthalten ein oder zwei Nukleolen. Der Chromatingehalt der Kerne wechselt, scheint jedoch etwas geringer zu sein als in den übrigen Zellkernen. Die Drüsenschläuche, die überwiegend von hellen Zellen gebildet werden, zeichnen sich durch ein weites Lumen aus. Zwischen den hier beschriebenen hellen Zellen in den Brunnerschen Drüsenanlagen und den indifferenten Kryptenepithelzellen, deren Zytoplasma stärker gefärbt ist, bestehen zu diesem Zeitpunkt zahlreiche Übergänge. Lediglich die Umgebung der etwas unregelmäßig geformten Kerne der indifferenten Zellen bleibt nahezu ungefärbt.

10–12 Tage nach der Geburt lassen sich im Gegensatz zu früheren Stadien mit der PAS-Reaktion auch im mittleren Duodenum helle Zellen, meist in aus-

führenden Drüsenschläuchen, nachweisen. Ihre Zahl ist jedoch in diesem Gebiet geringer als in Pylorusnähe, da die Differenzierung in der Mitte des Duodenum weniger weit fortgeschritten ist. Dunkle Zellen mit Zymogenkörnern sind hier relativ zahlreich. Im PAS-Präparat zeigen letztere im apikalen Abschnitt eine schwach positive Reaktion. Von ihnen lassen sich nur diejenigen hellen Zellen unterscheiden, die bereits vermehrt PAS-positives Material aufweisen. Dieses erfüllt sie dann in Form eines apikal verdichteten, bis zum basal gelegenen, abgeflachten Kern reichenden Maschenwerks.

14 Tage nach der Geburt beginnt sich der Schleim der hellen Zellen in der Mitte des Duodenum mit Astrablau bei p_H 0,2 zu färben. Die mit Astrablau dargestellten Substanzen sind ähnlich wie das PAS-Material verteilt, doch etwas mehr auf den apikalen Zellteil begrenzt. Neben dem Schleim der Brunnerschen Drüsenzellen werden bei dieser Färbung der Schleim der Becherzellen und der Stäbchensaum der Zotten dargestellt.

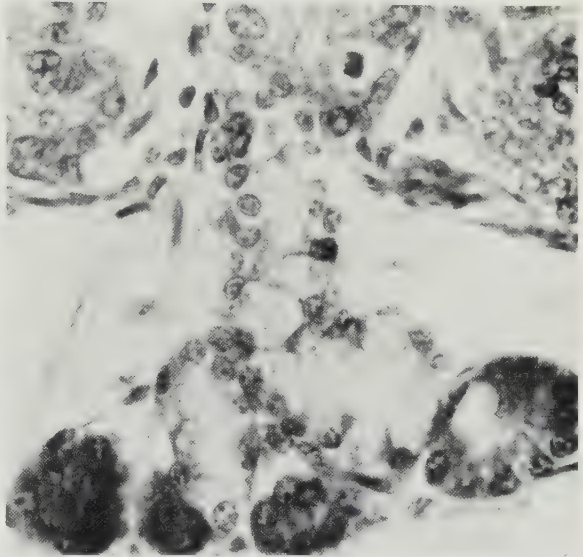


Abb. 5. Brunnersches Drüsenbäumchen aus dem Duodenum eines drei Wochen alten Kaninchens. Deutliche Darstellung des Zusammenhanges von Krypten, verzweigten hellen Drüsenschläuchen mit dunklen Endkappen. Bouin, HE., Vergr. 600fach

Erstmalig läßt sich am 14. Tag nach der Geburt in den dunklen Zellen die Basophilie des Zytoplasmas mit der Methylenblau-Pufferfärbung bei p_H 4,7, vom 18. Tag an bei p_H 3,6 nachweisen. Die basophile Substanz ist bereits an typischer Stelle im unteren Zellteil, hauptsächlich zwischen Kern und basaler Zellwand, lokalisiert. Die Intensität der Färbung ist dagegen noch relativ gering, sie erreicht etwa 21 Tage nach der Geburt eine größere Deutlichkeit. Die dunklen Zellen sind nun auch im HE-Präparat an ihrem basophilen Ergastoplasma erkennbar; doch findet dieses Charakteristikum erst im Verlauf von weiteren Wochen die starke Ausprägung wie beim erwachsenen Tier.

Die mit unseren Methoden erfaßten Differenzierungen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens erscheinen damit etwa 3 Wochen nach der Geburt abgeschlossen (Abb. 5). Mit dem weiteren Wachstum des Tieres und damit auch des Duodenum nimmt nur noch die Menge der hellen und dunklen Drüsenanteile zu.

b) Morphologie und Histochemie der Brunnerschen Drüsen des erwachsenen Kaninchens

Morphologische Beobachtungen. Beim erwachsenen Kaninchen füllen die Brunnerschen Drüsen die gesamte, in ihrem Ausdehnungsbereich erheblich verbreiterte Submukosa des Duodenum aus. Sie sind sehr zahlreich und bilden einen

dicht gelagerten Drüsenkomplex (Abb. 6). Selbst in der Mukosa, zwischen den Krypten, sind häufig einzelne Brunnersche Drüsen anzutreffen. Letztere bestehen teils aus hellen, teils aus hellen und dunklen Endstücken. Diese atypisch gelegenen Drüsen können voll erst durch elektive Färbemethoden (s. u.) erfaßt werden.

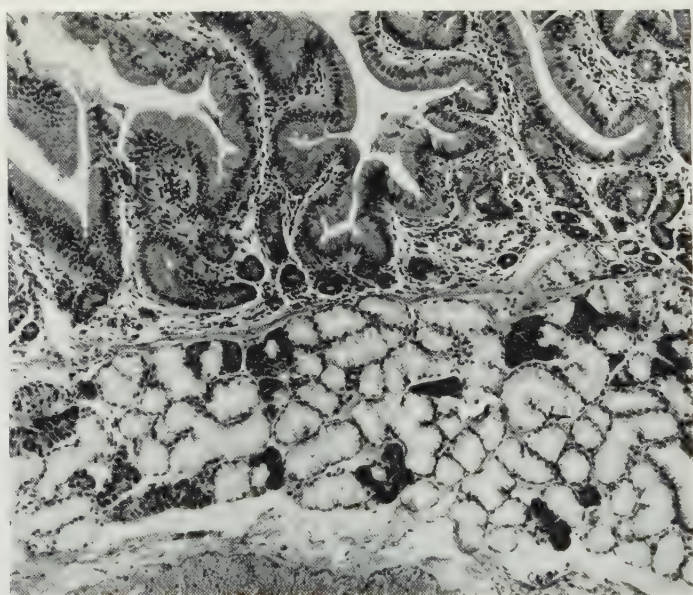


Abb. 6. Übersichtsaufnahme eines typischen Querschnitts durch das Duodenum (erstes Drittel) eines erwachsenen Kaninchens. Auffällig sind die starke Ausdehnung der Brunnerschen Drüsen und der Kontrast zwischen hellen und dunklen Zellen. Schaffer, Goldner-Klüver, Vergr. 90fach

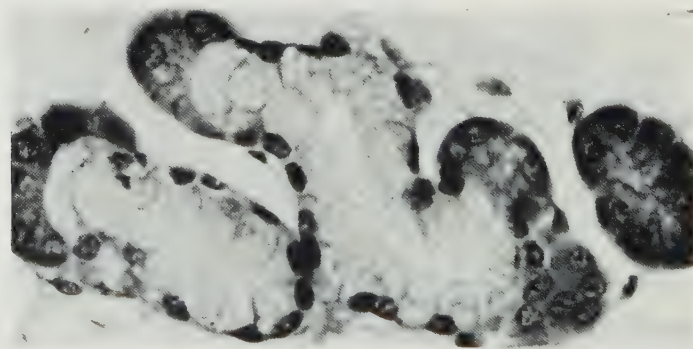


Abb. 7. Brunnerscher Drüsenkomplex aus der Mitte des Duodenum eines 5 Wochen alten Kaninchens. Deutlicher Kontrast zwischen hellen und dunklen Zellen. Bouin, HE., Vergr. 630fach

Der tubulo-alveoläre Aufbau der Drüsen und die Verteilung der beiden Zelltypen in den Drüsenbäumchen sind im Einzelschnitt wegen der starken Ausbreitung und Verflechtung der Drüsengänge weniger klar als bei jüngeren Tieren zu erkennen. Die dunklen Endstücke scheinen unregelmäßig in abschnittsweise wechselnder Menge zwischen den überwiegend hellen eingestreut zu sein. In Pylorusnähe finden wir nur selten, in Duodenummittle dagegen häufiger Endstücke aus dunklen Zellen (Abb. 7). In beiden Abschnitten überwiegen die hellen Zellen. Im letzten Drittel des Duodenum werden die Brunnerschen Drüsen spärlicher.

Der *Läppchenbau* der Drüsen tritt besonders klar bei Bindegewebsfärbungen hervor. Größere Septen, hauptsächlich aus Kollagenfasern, umgeben die einzelnen Drüsenlappen, sehr viel zartere Bindegewebszüge die einzelnen Drüsenschläuche. Elastische Fasern kommen nur in den stärkeren Septen vor und verlaufen stets senkrecht zur Darmwand. Sie sind im Bindegewebe der innen gelegenen Schichten der Ringmuskulatur und in dem der Muscularis mucosae verankert. Myoepithelzellen (Korbzellen) lassen sich in den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens weder mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin noch mit der Goldner-Klüver-Färbung nachweisen.

Von *Ausführungsgängen* im üblichen Sinne kann bei den Brunnerschen Drüsen nicht gesprochen werden, da in den die Muscularis mucosae durchbrechenden Gängen kein spezifisches Gangepithel auftritt. Es gleicht in morphologischer und histochemischer Hinsicht völlig dem der hellen Endstücke. Die Gänge münden am Fuße der Zotten oder über den Kryptengrund in das Darmlumen.

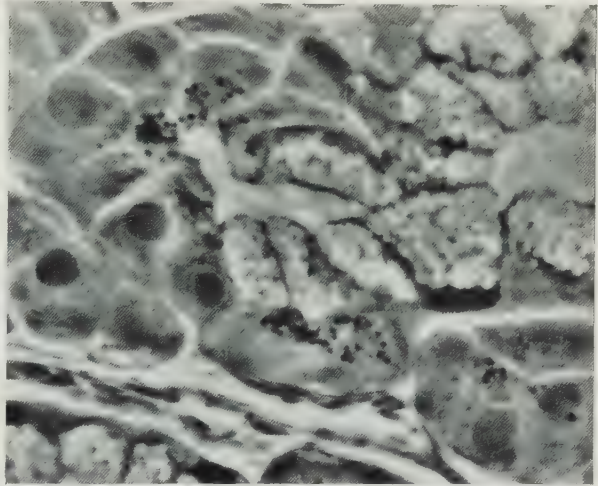


Abb. 8. Phasenkontrastmikroskopisches Bild der Brunnerschen Drüsenzellen eines erwachsenen Kaninchens. Darstellung von Zymogenkörnern, Kernen, Nukleolen und Lamellenstrukturen in den dunklen Zellen. Das Plasma der hellen Zellen erscheint wabig. Mündung einer dunklen Endkappe in einen hellen Schlauch. Ölimmersion, Vergr. 900fach

Die pyramidenstumpfförmigen dunklen Zellen verdanken ihre Bezeichnung der intensiven Anfärbbarkeit ihres Zytoplasmas mit basischen Farbstoffen, z. B. Hämatoxylin, Toluidinblau, Methylenblau usw. Besonders intensiv fallen diese Färbungen in den basalen Zellteilen aus, die vor allem phasenkontrastmikroskopisch zart gestreift erscheinen. Die hier gelegenen Plasmalamellen — möglicherweise ein stark vergrößertes Abbild des elektronenmikroskopisch sichtbaren endoplasmatischen Retikulum — sind meist in Längsrichtung der Zelle oder parallel zur Kernmembran orientiert. Die sehr großen, runden Kerne der dunklen Zellen liegen in der basalen Zellhälfte. Sie zeigen ein reiches Chromatingerüst, dazu einen oder zwei Nukleolen.

Der charakteristische Bestandteil des apikalen Zellbereiches der dunklen Zellen sind die *Zymogengranula*, die phasenkontrastmikroskopisch besonders markant darstellbar sind (Abb. 8). Sie sind rund, ungleich groß und liegen zusammengedrängt an der lumenseitigen Zellwand. Bei stärkerer Anfüllung der Zelle breiten sie sich nach basal bis in die Region des Zellkerns aus. Eine kräftige rotviolette Anfärbung der Zymogensubstanz ist nach Azetonfixierung mit Azan möglich. Die Körnchen verlieren aber hierbei weitgehend ihre Form und fließen zusammen. Im HE-Präparat erscheint die Region der Zymogengranula leicht eosinophil. — Die dunklen Endstücke besitzen nur sehr kleine Lumina.

Die Form der allgemein etwas plumperen hellen Zellen und ihrer Kerne ist wegen großer Unterschiede im Sekret(Schleim-)gehalt der Zellen uneinheitlich. In flachen bis kubischen Zellen liegen die runden Kerne in der basalen Hälfte; sie sind bei etwas geringerem Chromatingehalt von etwa gleicher Größe wie die der dunklen Zellen. Durch Sekretvermehrung werden die Zellen höher und die Kerne zur basalen Zellwand verlagert. Sie nehmen dabei an Größe ab und erscheinen dichter. Schließlich können sie schüsselförmig zusammengepreßt an der basalen Zellwand liegen. Der von den Zellen produzierte Schleim selbst ist nur mit speziellen Methoden (s. u.) erfaßbar. Daher erscheinen die Zellen bei Routinefärbungen fast stets „hell“. Der Schleim ist geringgradig eosinophil; die Azanfärbung stellt ihn je nach Fixierung ganz schwach rötlich oder nach Azetonfixierung hellblau dar. Mit verschiedenen Methoden lassen sich in vielen hellen Zellen im supranukleären Gebiet gerüstartige basophile Golgi-Strukturen darstellen. Die Lumina der hellen Gänge und Endstücke sind stets sehr weit, jedoch nicht einheitlich.

Histochemische Beobachtungen. Dunkle Zellen. Mit der *Methylenblau-Pufferfärbung* p_H 3,6 gelingt eine elektive Anfärbung der dunklen Zellen im basalen Zellbereich. Auch mit dieser Methode treten hier lamelläre Strukturen hervor. Apikal sind nur gelegentlich Spuren einer Basophilie zu beobachten. Die Kerne bleiben mit Ausnahme einer schwachen Reaktion in den Nukleolen ungefärbt.

Mit der *Methylenblau-Pufferfärbung* p_H 3,6 werden in den dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens Ribonukleinsäuren dargestellt. Nach Inkubation der Schnitte in Ribonukleaselösung fällt die Reaktion negativ aus. Liegt das p_H der Farblösung unter 3,6, wird die Intensität der Färbung schwächer, bei höherem p_H verliert sie ihre Spezifität. So färbt sich z. B. bereits bei p_H 4,7 der Schleim der Becherzellen im Kryptengebiet kräftig, der der hellen Zellen geringgradig mit. Chromatin und Nukleolen aller Zellkerne werden dann ebenfalls dargestellt. Mit weiter gesteigertem p_H nimmt die Färbbarkeit aller Strukturen weiter zu. Vergleichsfärbungen zeigen, daß sich die exokrinen Pankreaszellen wie die dunklen Zellen verhalten.

Mit *Toluidinblau* führt auch noch die stärkste Farbstoffverdünnung zu einer intensiven orthochromatischen Anfärbung der dunklen Zellen, besonders ihres Basalplasmas.

Die *Ninhydrin-Schiff-Reaktion* fällt im Basalbereich der dunklen Zellen am kräftigsten aus. Außerdem reagieren Kernmembran, Chromatingerüst und Nukleolen deutlich; in gleicher Weise sprechen auch die Kerne der hellen Zellen an, deren Zytoplasma jedoch nur ganz schwach hervortritt. Auf dieselbe Art behandeltes Pankreasgewebe zeigt in Verteilung und Konzentration der mit dieser Methode nachgewiesenen α -Aminosäuren das gleiche Verhalten wie die dunklen Endstücke der Brunnerschen Drüsen.

Beim *SH-Gruppen-Nachweis* sind die dunklen Zellen deutlich hervorgehoben. Dabei reagiert der basale Zellbereich aber nur wenig stärker als der apikale. Binnenstrukturen und Membranen aller Zellkerne werden gut dargestellt. Der Inhalt der hellen Zellen ist kaum, die Zellwände sind dagegen klar erkennbar.

Eine besonders gute Darstellung der Zymogengranula in den dunklen Zellen liefert neben der Phasenkontrastmikroskopie die metachromatische Reaktion der Granula mit *Dichlorpseudoisocyanin* (Abb. 9). Sie tritt nur an oxydierten Schnit-

ten mit nachfolgender Behandlung durch Säuren auf (z. B. Schwefelsäure, Salzsäure, Perchlorsäure, Trichloressigsäure, Essigsäure). Bei Untersuchung der Präparate mit monochromatischem Licht der Wellenlänge $578\text{ m}\mu$, dem annähernden Absorptionsmaximum des polymerisierten, metachromatischen Farbstoffes sind die Zellen selbst nur schattenhaft erkennbar. Dagegen werden die Sekretgranula im apikalen Zellteil überaus deutlich sichtbar. Ihre Form und Größe sind nicht immer einheitlich. Unmittelbar an der apikalen Zellwand sind die Granula am stärksten konzentriert; sie verlieren sich gegen die Zellmitte

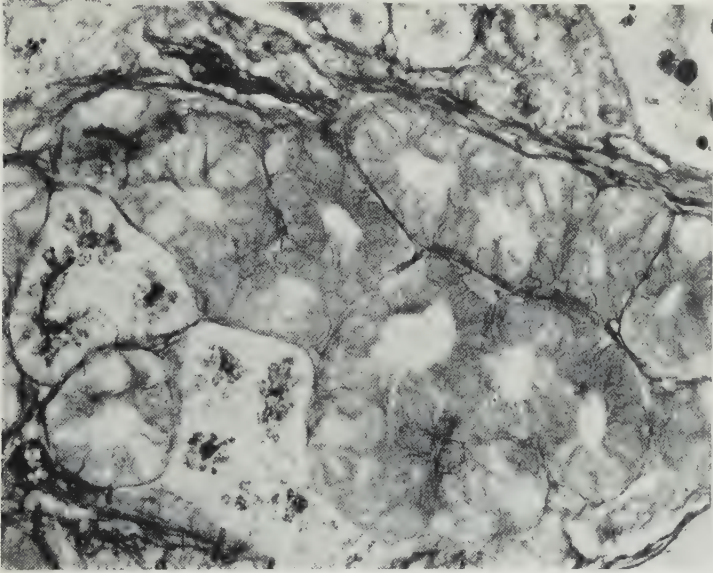


Abb. 9. Metachromatische Reaktion mit Dichlorpseudoisocyanin in den Brunnerschen Drüsen eines erwachsenen Kaninchens. Sehr kräftige Reaktion der Zymogengranula in den dunklen Zellen und des Sekretes in den zugehörigen Ausführungsgängen. Schwächere Reaktion des Schleimes in den hellen Zellen, starkes Hervortreten der Becherzellen (rechter oberer Bildrand). Bouin, Foto bei $578\text{ m}\mu$, Vergr. 500fach

Häufig findet sich in den Lumina der Endstücke Sekret, doch bleiben die Granula nur selten erhalten. Sie fließen in der Regel zu einer die Gänge erfüllenden homogenen Masse zusammen. Die Reaktion läßt sich mit gleichem Ergebnis am Pankreas durchführen (SCHIEBLER, unveröffentlicht).

PAS-positive Substanzen homogenen bis fädigen Aussehens sind in den dunklen Zellen nur in geringen Mengen zwischen Kern und Zellspitze vorhanden. Hier kann auch eine ganz schwache Färbung mit *Paraldehydfuchsin* auftreten. Beides ist auch an Pankreaszellen zu sehen.

Negative Ergebnisse liefern die Alcian- und Astrablaumethoden.

Helle Zellen. Elektive Färbungen. Eine streng elektive, sehr kräftige Anfärbung des Schleimes in den hellen Zellen bei gleichzeitiger Darstellung der Becherzellen ist mit essigsaurer *Alcianblaulösung* möglich. Die Ergebnisse sind bei Benutzung der Lösung nach LISON und der nach MOWRY gleichartig. Wäßrige Alcianblaulösung färbt dagegen unspezifisch. Der Schleim füllt die Zellen völlig aus. Die Lumina der hellen Endstücke zeigen häufig fädig-körnigen Inhalt.

Die Färbung mit Astrablau nach BLOOM und KELLY (1960) führt zu dem gleichen Ergebnis wie die mit Alcianblau. Bei ausgezeichneter Elektivität ist jedoch die Färbintensität etwas geringer.

Den Alcianblau- und Astrablau-Präparaten ähneln die mit *Paraldehydfuchsin* gefärbten. Dieser Farbstoff stellt ebenfalls den Schleim in den hellen Zellen und den Becherzellen elektiv dar. Voroxydation der Schnitte mit saurer Kaliumpermanganatlösung verstärkt die Färbung der hellen Zellen kaum, die der Becherzellen merklich. Sie bewirkt, daß der Stäbchensaum der Zotten deutlich erkennbar ist; es kommt auch zu einer schwachen Mitfärbung der Faserstrukturen im gesamten Gewebe.

Chromhämatoxylin färbt im Gegensatz zu Paraldehydfuchsin den Schleim der hellen Zellen nur ganz schwach an; die Becherzellen werden dagegen kräftig dargestellt. Voroxydation der Schnitte verstärkt die Färbung unerheblich.

Metachromasie. Mit Toluidinblau zeigt der Schleim der hellen Zellen γ -Metachromasie. Die „Stärke der Metachromotropie“ (GRAUMANN 1961) wurde durch Benutzung einer Verdünnungsreihe des Farbstoffes bestimmt. Bei einer Färbedauer von 24 Std bleibt die metachromatische Reaktion in den hellen Zellen bei Bouin-Fixierung noch bis zu einer Farbstoffverdünnung auf 1:200 000, bei Susa-Fixierung auf 1:500 000 deutlich erkennbar; sie ist aber insgesamt stark abgeschwächt. Die Schleimsubstanzen innerhalb einer hellen Zelle färben sich dann nicht mehr einheitlich. Bei noch metachromatischer Grundfärbung wird ein feines, die Zelle durchziehendes Netz orthochromatisch reagierender Strukturen zwischen Zellmitte und Drüsenlumen sichtbar. Dieses Netzwerk ist im Gegensatz zum übrigen Zellinhalt, in Zellkernen und Zellwänden noch mit einer Farblösung der Verdünnung 1:1 Million darstellbar.

Mit *Dichlorpseudoisocyanin* kann der Schleim der hellen Zellen ebenfalls, doch schwächer als die Zymogengranula der dunklen Zellen, metachromatisch reagieren (Abb. 9). Voraussetzung dazu ist die Behandlung der Schnitte nach Permanganat-Oxydation mit Methanol-Schwefelsäure (5–15 min). Der Schleim der Becherzellen reagiert in jedem Falle — auch ohne Oxydation — kräftig metachromatisch.

Die *PAS-Reaktion* fällt in den Becherzellen am kräftigsten aus; ihr Schleim erscheint homogen bis grobkörnig. Die Konzentration der PAS-positiven Substanzen ist in den hellen Zellen etwas geringer. Die Dichte dieses Materials und der Füllungszustand der Zellen wechseln, sind jedoch bei Zellen eines Schlauchquerschnittes relativ gleichmäßig. Die Strukturen verdichten sich im allgemeinen an der apikalen Zellwand; sie füllen meist die gesamte Zelle aus, doch kann auch ein basaler Bereich freibleiben. Diastasedigestion mindert den Ausfall der PAS-Reaktion nicht.

Fermentnachweise. Die Reaktionen für Bernsteinsäuredehydrogenase, Carboanhydrase und alkalische Phosphatase fielen in allen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens *negativ* aus. Gleiches gilt für den *Lipoidnachweis* mit Sudan-Schwarz B an formolfixierten Gefrierschnitten.

c) Experimentelle Untersuchungen

Beobachtungen bei Hunger und anschließender Fütterung. Nach 4tägigem Nahrungs- und Wasserentzug kommt es zu einer deutlichen Vermehrung der

Sekretionsprodukte in den Brunnerschen Drüsenzellen. Die mit PAS und Astrablau darstellbaren Schleimsubstanzen verdichten sich stark und füllen die hellen Zellen ganz aus (Abb. 10). Die Zellen werden höher, und der Lumendurchmesser der hellen Drüsenschläuche nimmt ab. Die Zellkerne erscheinen abgeflacht und sind gegen die Zellbasis gedrängt, ihr Volumen ist geringer geworden.

In den dunklen Zellen vermehren sich die Zymogengranula. Die Basophilie des Basalplasmas ist bei der Methylenblaufärbung p_H 3,6 intensiver als bei unbehandelten Tieren. Die PAS-Reaktion der körnig-fädigen Strukturen im apikalen Zellbereich ist ebenfalls deutlicher geworden. Die basal gelegenen, runden Zellkerne sind unauffällig. Der Stäbchensaum der Zotten und die sehr zahlreichen stark gefüllten Becherzellen reagieren mit PAS gleichmäßig und kräftig.

1 Std nach Fütterung der Hungertiere sind noch reichlich Schleimsubstanzen in den hellen Zellen mit PAS und Astrablau nachweisbar, jedoch in geringerer Menge als vor der Fütterung. Die Zellkerne sind in einigen hellen Zellen bereits wieder rund. Die Mehrzahl der Lumina der hellen Tubuli ist von Schleimfäden erfüllt. In den dunklen Zellen hat die Basophilie geringfügig abgenommen. Eine Veränderung an den Zymogengranula ist nicht deutlich zu erkennen.

2 Std nach Fütterung enthalten die hellen Zellen erheblich weniger Schleim. Innerhalb eines Acinus ist der Füllungszustand der Zellen annähernd gleich. Zwischen den Acini können erhebliche Unterschiede bestehen. Entsprechend dem verschiedenen Sekretgehalt der Zellen variieren die Kernformen. Die Basophilie der dunklen Zellen hat weiter in geringem Maße abgenommen. Die Zymogengranula haben sich apikal stark zusammengedrängt, sind hier und in den Lumina der Drüsengänge z. T. zu einer homogenen Substanz zusammengefloßen.

Pilokarpin-Reizung. In diesen Experimenten werden die hellen Zellen elektiv gereizt.

Die benutzte Dosierung des Pilokarpins von 30 mg je kg Körpergewicht liegt beim Kaninchen an der Grenze der Verträglichkeit. Alle Tiere wurden nach der Injektion unruhig, es traten heftiger Speichel- und Tränenfluß sowie Diarrhöen auf. Ein Tier verendete $1\frac{1}{2}$ Std nach der Injektion.

Für die *hellen Zellen* in den Brunnerschen Drüsen stellt Pilokarpin in unserer Dosierung einen außerordentlich wirksamen Sekretionsreiz dar. *$\frac{1}{2}$ Std nach der Injektion* sind die Lumina der hellen Schläuche in geradezu grotesker Weise erweitert (Abb. 11). Im Gegensatz zu den ungereizten und besonders zu den Speicherzellen (s. o., vgl. Abb. 10) sind die hellen Zellen jetzt ganz flach, breiter als hoch; ihr Kern ist abgerundet. PAS- und Astrablau-positive Schleimfäden sind nur im apikalen Zellbereich vorhanden, wo auch ein schwach basophiles Netzwerk sichtbar sein kann. Der Stäbchensaum ist im Bereich der Zottenspitzen unregelmäßig geworden. Die hier befindlichen Becherzellen sind in Entleerung begriffen.

1 Std nach der Injektion ist die Dilatation der hellen Schläuche ein wenig zurückgegangen. Ihre Lumina sind häufig von grobschaumigen Schleimmassen erfüllt. Die hellen Zellen enthalten häufig große, färberisch indifferente Vakuolen. Schleim ist in den hellen Zellen nur apikal in geringen Mengen nachweisbar. In das Bindegewebsstroma der Brunnerschen Drüsen, des Kryptengebietes und der Zotten wandern überaus viele Leukozyten ein. Diese Reaktion ist bei dem Hungertier deutlich stärker als beim unvorbereiteten. Fast alle Becherzellen

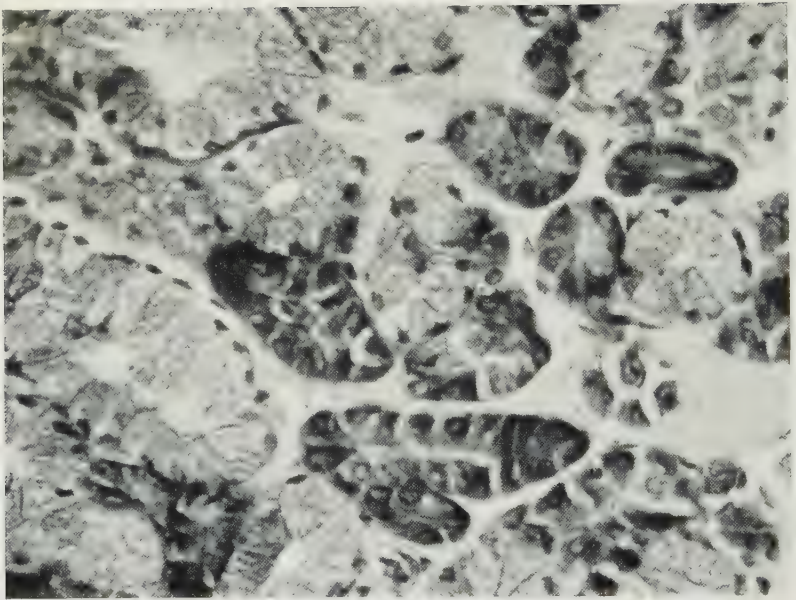


Abb. 10. Brunnersche Drüsen eines Kaninchens nach 4tägigem Hunger. PAS-Reaktion, Hämalaun. Starke Schleimfüllung der hellen Zellen, deren Kerne klein, flach, ganz basal gelegen sind. Starke Basophilie der dunklen Zellen. Bouin, Vergr. 480fach

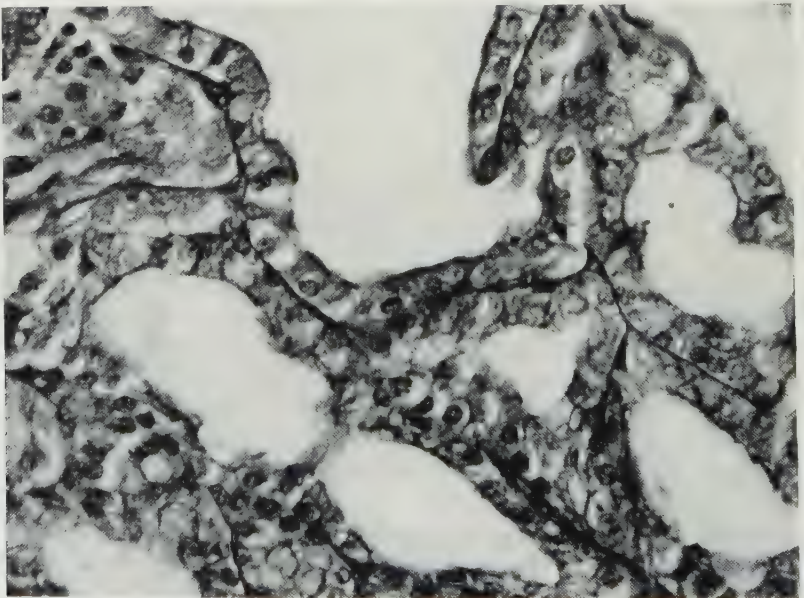


Abb. 11. Brunnersche Drüsen eines Kaninchens aus der Nähe des Pylorus $\frac{1}{2}$ Std nach Injektion von Pilocarpin. Extreme Dilatation der Drüsengänge, starke Verminderung des Zellinhaltes. Die Kerne sind rund und liegen nicht mehr streng basal. Bouin, PAS, Hämalaun, Vergr. 480fach

haben sich entleert, die Reihe der Zottenepithelkerne ist unregelmäßig, der Stäbchensaum dünn und lückenhaft. Im Gebiet der Zottenspitzen ist es zu zahlreichen Epitheldefekten gekommen.

2 Std nach der Injektion finden sich in zahlreichen hellen Zellen Anzeichen für den *Neubeginn der Schleimproduktion*. An der apikalen Zellwand tritt ein deutlicher PAS-positiver schmaler Saum auf; hieran schließt sich nach basal ein leicht basophiler Zytoplasmabereich an. In der Mitte zwischen Kern und Zelloberfläche erscheinen zarte, fädige, deutlich mit PAS darstellbare Substanzen. Einzelne Zellen enthalten aber bereits wieder das typische PAS-positive Netz im gesamten apikalen Zellbereich. Die Durchmesser der Acinuslumina sind sehr unterschiedlich; die Zellen innerhalb der Acini zeigen Unterschiede im Funktionszustand.

4 Std nach der Injektion scheint die Reizwirkung weitgehend abgeklungen zu sein. Die Lumina der hellen Drüsenacini sind gegenüber dem Ruhezustand nur wenig vergrößert. Sie enthalten noch Schleimfäden. Die Zellen in den einzelnen Acini befinden sich im allgemeinen wieder im gleichen Funktionszustand. Sie füllen sich von apikal nach basal mit Schleimsubstanzen. Der Schleim reicht meist noch nicht über das apikale Drittel der Zellen hinaus. Eine Verdrängung der Kerne nach basal und ihre Deformierung sind daher noch nicht zu beobachten.

Bei den *dunklen Zellen* konnte trotz der hohen Pilocarpindosierung keine deutliche Extrusion der Zymogengranula beobachtet werden, ebenso wenig bei den Pankreaszellen. Nach der Reizung nimmt die Basophilie der dunklen Zellen (Methylenblau-Pufferfärbung) leicht ab. $1\frac{1}{2}$ Std nach der Injektion beginnt sie bereits wieder etwas anzusteigen, hat aber 4 Std nach der Injektion noch nicht wieder die Ausgangsintensität erreicht.

Natriumoleat-Reizung. In diesen Versuchen sollten die dunklen Zellen elektiv gereizt werden (vgl. BECKER 1957). — $1\frac{1}{2}$ Std. nach der Injektion der Natriumoleatlösung in das Duodenum des narkotisierten Tieres findet sich, verglichen mit Kontrolltieren, eine nur geringe Verminderung der Zymogengranula in den dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen. Die paranukleäre Basophilie ist leicht abgeschwächt. Im Pankreas ist dagegen eine Abnahme der Zymogengranula deutlicher erkennbar. In den hellen Drüsenanteilen sind keine deutlichen Veränderungen zu finden. Die Lumina sind relativ klein, die Zellen von einem dichten Schleimnetz erfüllt. Die Kerne sind meist ziemlich flach und von sehr dichter Struktur, seltener eiförmig oder rund. Die Becherzellen im Bereich der Zottenspitzen sind entleert oder in Entleerung begriffen. Der Stäbchensaum ist durch die Seifenlösung beschädigt oder ganz zerstört. *3 Std nach der Injektion* sind die Lumina der dunklen Endstücke weitgehend von granulären bis homogenen Sekretmassen ausgefüllt. Die Zahl der Zymogengranula in den Zellen hat jedoch kaum abgenommen; die Basophilie hat sich weiter verringert. Die hellen Zellen haben Schleim abgegeben, enthalten aber noch ein reiches Netzwerk mit meist apikaler Verdichtung. Jedoch ist die Mehrzahl ihrer Zellkerne wieder abgerundet und zeigt ein Chromatingerüst. In gleicher Weise, jedoch in geringerem Ausmaß, haben auch die hellen Zellen beim Kontrolltier reagiert.

Auch *6 Std nach der Injektion* sind noch sehr viele Zymogengranula in den dunklen Zellen, aber auch in den Pankreaszellen, vorhanden. Die *hellen Tubuli* haben unterschiedlich reagiert. Ihre Lumina sind z. T. stark erweitert, z. T. unauffällig. Die Zellkerne sind rund bis eiförmig, doch ist in allen Zellen weiterhin reichlich Schleim nachweisbar.

Diskussion

Im entwicklungsgeschichtlichen Teil unserer Untersuchung wird erstmalig die *Organo- und Histogenese der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens* beschrieben. Bisher liegen mit Ausnahme einer Mitteilung über die Entwicklung der Brunnerschen Drüsen des Menschen (PATZELT 1931, 1936) keine Arbeiten ähnlicher Art vor. Ein Vergleich der Entstehung dieser Organe bei verschiedenen Tieren ist daher z. Zt. nicht möglich. Dabei wäre eine derartige Untersuchung überaus wichtig, um die tierartigen Unterschiede im Aufbau, in der Ausdehnung und möglicherweise in der Funktion dieses Organs besser als bisher zu verstehen. Beispielsweise erstrecken sich die Brunnerschen Drüsen bei der Maus über wenige Millimeter der pylorusnahen Duodenalwand, beim Pferd dagegen über eine Länge von 6—8 m und überschreiten damit weit die Grenzen des Duodenum (PATZELT 1936). Diese und ähnliche Unterschiede, die auch die färberische Darstellung der Drüsenzellen (BOERNER-PATZELT 1942) und die biochemischen Eigenschaften ihres Sekretes (FLOREY und HARDING 1934, FLOREY, WRIGHT und JENNINGS 1941) betreffen, haben nach unserer heutigen Kenntnis keine Beziehung zur systematischen Stellung der Tiere und zur Art ihrer Ernährung. Möglicherweise spielt aber für das Vorkommen solch auffälliger Differenzen die Tatsache eine Rolle, daß die Brunnerschen Drüsen phylogenetisch junge Organe sind, die erst bei den Säugern auftreten. Derartige Organe neigen stets zu starker Form- und Strukturvariabilität. Vorliegende Untersuchung stellt daher nur den Anfang einer Reihe vergleichend-entwicklungsgeschichtlicher Studien über die Brunnerschen Drüsen der Säuger dar.

Die Entwicklung der Brunnerschen Drüsen des *Kaninchens* wird nicht ohne weiteres mit der anderer Säuger zu vergleichen sein. Beim Kaninchen weisen diese Organe nämlich einen eigenartigen Bau auf, der von dem fast aller anderen Tierarten abweicht. Ein Vergleich zwischen der Entwicklung der Brunnerschen Drüsen beim *Menschen* und beim *Kaninchen* scheitert außerdem an den auffälligen zeitlichen Differenzen, die auch den Beginn der Funktionsaufnahme betreffen dürften. Beim Menschen treten die ersten Anlagen der Brunnerschen Drüsen bereits im ersten Drittel der Embryonalzeit auf. Die Entwicklung scheint am Ende des zweiten Drittels weitgehend abgeschlossen zu sein (PATZELT 1931, 1936). Beim Kaninchen dagegen beginnt die Organogenese erst kurz vor der Geburt und erstreckt sich über die ersten drei Lebenswochen. Unberührt bleibt davon jedoch die Tatsache, daß die Brunnerschen Drüsen beider Säuger dem Duodenalepithel entstammen. Möglicherweise finden die großen Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Entwicklung dieser Drüsen ihre Erklärung in entsprechenden Unterschieden in der Differenzierung des Duodenum, die beim Menschen früher als beim Kaninchen beginnt. Anlagen Brunnerscher Drüsen setzen anscheinend einen gewissen Differenzierungsgrad dieses Darmabschnittes voraus, insbesondere die Bildung von Zotten- und Kryptenanlagen.

Parallel zu den Unterschieden im zeitlichen Ablauf der Organogenese Brunnerscher Drüsen gehen solche in der *Differenzierung der Drüsenzellen*. Während beim Menschen Sekret in den Brunnerschen Drüsen bereits in der Mitte der Embryonalzeit nachweisbar ist, gelingt dies beim Kaninchen erst zur Zeit der Geburt bzw. kurz danach. Dabei sind von den beiden in den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens vorkommenden Zellen die „dunklen“ früher zu erkennen als die „hellen“.

Eigentümlicherweise tritt die intensive Zytoplasmafärbung der dunklen Zellen, die ihnen ihren Namen eintrug, keineswegs zuerst auf. Zuvor sind bereits Zymogenkörnchen entstanden — im Anfangsteil der Duodenum vereinzelt bereits einen Tag vor der Geburt. Sie vermehren sich in den ersten Tagen des postnatalen Lebens so stark, daß einige Drüsenzellen bereits zu dieser Zeit den Granulabestand ausgereifter Zellen aufweisen. Dies gilt jedoch nicht für die dunklen Zellen der Drüsenanlagen in den letzten zwei Dritteln des Duodenum. In diesen Darmabschnitten beginnt die Zelldifferenzierung erst einige Tage später. Die Duodenalentwicklung schreitet von kranial nach kaudal fort.

Die erwähnte intensive Färbbarkeit der dunklen Zellen, bedingt durch die Basophilie ihres Zytoplasmas, wird durch die Methylenblau-Pufferfärbung bei p_H 4,7 am 14. Tag nach der Geburt, bei p_H 3,6 am 18. Tag nachweisbar und erreicht erst im Verlauf weiterer Wochen die endgültige Intensität. In allen Fällen scheint sie, wie die Kontrollversuche mit Ribonuklease ergaben, auf *Anwesenheit von Ribonukleinsäuren* (RNS) zu beruhen.

Dieser Befund dürfte in engem Zusammenhang mit der Fähigkeit der dunklen Zellen zur Bildung der eiweißreichen Zymogenkörnchen stehen. Nach geltender, gut gesicherter Anschauung ist nämlich das Vorhandensein von RNS unabdingbare Voraussetzung für die intrazelluläre Eiweißsynthese (ALTMANN 1955, BRACHET 1959, Lit.). Unter den bekannten Zellstrukturen spielt hierbei das mit ribonukleoproteinhaltigen Granula besetzte endoplasmatische Retikulum bzw. das Ergastoplasma eine entscheidende Rolle (vgl. F. C. SCHMIDT, im Druck). Mit der Vorstellung von der Eiweißsynthese in RNS-reichen Zellen scheint jedoch unser Befund vom Auftreten der Zymogengranula lange vor dem Gelingen der auf RNS hinweisenden Methylenblau-Pufferfärbung in Widerspruch zu stehen. Hier dürften einige elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der exokrinen Pankreaszelle weiterhelfen. PIPAN (1960) und MUNGER (1958) konnten zeigen, daß RNS-haltige Granula und ein endoplasmatisches Retikulum stets vor dem Auftreten der ersten Zymogenkörnchen — etwa am 12. Embryonaltag — entstehen. Freilich ist beides zunächst so spärlich entwickelt, daß es sich der lichtmikroskopischen und histochemischen Beurteilung entzieht. Voll ausdifferenziert ist das RNS-haltige Membranensystem des Zytoplasmas erst zwei Wochen später, ein Zeitpunkt, zu dem im Pankreas der Maus die Methylenblau-Pufferfärbung längst gelingt. Allerdings muß in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß keine zwangsläufige Parallelität zwischen dem elektronenmikroskopischen Bild des Ergastoplasmas und der histochemischen Basophilie besteht (DEANE und PORTER 1960). Zu den Zeiten intensiver Proteinsynthese und während eines hohen Eiweißverbrauches fehlt eine Basophilie, im Pankreas der erwachsenen Maus z. B. bei Sekretausschüttung nach pharmakologischem Reiz (HUBER 1949). Am Ende der Restitutionsphase stellt sich die Basophilie wieder ein.

Eine ungeklärte Frage ist die nach dem *Bildungsort der Zymogenkörnchen*. Anhand unseres eigenen Untersuchungsgutes können wir hierzu nichts beitragen, da keine elektronenmikroskopischen Untersuchungen durchgeführt wurden. Zieht man die exokrine Pankreaszelle abermals zum Vergleich heran, so soll nach den entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen von PIPAN (1960) die Zymogensynthese in den Hohlräumen des blasenförmig erweiterten endoplasmatischen

Retikulum, nach MUNGER (1958) im Golgiapparat erfolgen (vgl. SjöSTRAND und HANZON 1954, PALADE 1956, HIRSCH 1960). Inwieweit diese Beobachtungen auf die dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens übertragen werden können, ist eine offene Frage. In Erwägung ziehen könnte man, daß die Vorgänge bei der Zymogenkörnchenbildung einem allgemein gültigen Prinzip folgen, und daß seit SCHWALBE (1872) von der Mehrzahl der Autoren eine Identität zwischen exokrinen Pankreaszellen und dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen beim Kaninchen angenommen wird. Für diese Identität sprechen auch die Resultate der von uns neu zu diesem Zweck herangezogenen Methoden (Phasenkontrastmikroskopie, Methylenblau-Pufferfärbung, Ninhydrin-Schiff-Reaktion, SH-Gruppen-Nachweis, Dichlorpseudoisocyaninfärbung usw.). Ferner kann berücksichtigt werden, daß beide Zellarten gleicher Herkunft sind. Sie haben sich, wenn auch zu verschiedenen Zeiten, aus dem embryonalen Duodenalepithel differenziert, die Pankreaszellen früher als die dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen. Dennoch ist auf keinen Fall die Annahme von HOSODA (1956) berechtigt, daß die dunklen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens aus in der Darmwand zurückgebliebenen Resten der Pankreasanlagen stammen. Eindeutig haben unsere Untersuchungen gezeigt, daß die dunklen Zellen eine vom Pankreas unabhängige Entwicklung durchlaufen.

Während die dunklen Zellen etwa zur Zeit der Geburt am Auftreten der Zymogenkörnchen erkennbar werden, finden sich *helle Zellen* in Pylorusnähe erstmalig 4—5 Tage später. In diesem Duodenalabschnitt nimmt ihre Zahl innerhalb weniger Tage so stark zu, daß sie die der dunklen Zellen bei weitem übertrifft. Im mittleren Drittel des Duodenum sind helle Zellen erst am 10. bis 12. Tag nach der Geburt erkennbar. Auch hier vermehren sie sich schneller als die dunklen Zellen, deren Anteil in diesem Duodenalabschnitt jedoch relativ größer bleibt als weiter kranial. Ob in der unterschiedlichen Verteilung beider Zellarten eine funktionelle Bedeutung für den Ablauf der Verdauung gesehen werden kann, erscheint zweifelhaft.

Die hellen Zellen sind im Verlauf ihrer Entstehung — wie die dunklen — erst mit dem Auftreten von Sekret identifizierbar. Fädig-körnige, kräftig PAS-positive Strukturen finden sich zunächst im supranukleären Bereich und breiten sich bis zur Zellspitze aus. Das PAS-Material verdichtet sich dann unter der lumenseitigen Zelloberfläche. Mit weiterer Sekretproduktion nimmt diese Verdichtung von apikal in Richtung auf den Zellkern zu, der schließlich abgeflacht und gegen die basale Zellwand gedrängt werden kann. Die Beobachtung der ersten PAS-positiven Substanzen im supranukleären und apikalen Bereich der Zellen entspricht dem elektronenmikroskopischen Befund von MOE (1960) an Brunnerschen Drüsenzellen der Katze. Danach sollen die Sekretkörnchen im Gebiet der reichlich entwickelten Doppelmembranen und Vakuolen des supranukleär gelegenen und gelegentlich bis zur Zellspitze reichenden Golgi-Apparates entstehen. Wieweit diese Befunde, die der bisher einzigen elektronenmikroskopischen Untersuchung über die Brunnerschen Drüsenzellen entstammen, auf die hellen Zellen des Kaninchens übertragen werden dürfen, muß fraglich bleiben, da den Duodenaldrüsen der Katze nach MOE eine Sonderstellung auf der Grenze zwischen „serösem“ und „mukösem“ Typ zukommt.

In *histochemischer Hinsicht* ist bei der Differenzierung der hellen Zellen bemerkenswert, daß das Sekret dieser Zellen erst einige Tage nach der Darstellung durch die PAS-Reaktion von Astrablau bei p_H 0,2 gefärbt wird. Mit der PAS-Reaktion werden relativ viele Stoffe erfaßt: Unter anderem Polysaccharide (z. B. Glykogen), saure und neutrale Mukopolysaccharide, Glyko- und Mukoproteide, Glykolipide und wahrscheinlich ungesättigte Neutralfette (GEDIGK 1952). Astrablau in stark saurer Lösung ist dagegen unter den Bedingungen des histologischen Präparates weitgehend spezifisch für saure Mukopolysaccharide (BLOOM und KELLY 1960). Für das Gelingen dieser Färbung ist die Anwesenheit von Phosphat- und Sulfatestergruppen entscheidend. Für das Sekret der hellen Zellen der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens besagen diese histochemischen Beobachtungen, daß die Schleimsubstanzen der in Entwicklung begriffenen Zellen neutrale oder nur schwach saure Mucopolysaccharide sind. Glykogen wurde durch Diastasedigestion ausgeschlossen. Im Laufe der weiteren Entwicklung scheinen dann Substanzen mit mehr sauren Gruppen hinzuzukommen, so daß wir in den ausgereiften hellen Zellen nebeneinander neutrale und reichlich saure Mukopolysaccharide finden. Ähnliche Verhältnisse sollen nach GRAUMANN (1960) bei der Synthese des Becherzellschleimes vorliegen. Auch hier sollen zunächst neutrale Mukopolysaccharide gebildet werden, die dann im supranukleären Zellbereich einer Veresterung unterworfen werden. Dadurch gewinnen sie sauren Charakter. Allerdings ist die Azidität des Becherzellschleimes auch beim Kaninchen erheblich höher als die der hellen Zellen der Brunnerschen Drüsen.

Eine andere Frage betrifft mögliche *Übergänge zwischen dunklen und hellen Zellen* während der Entwicklung der Brunnerschen Drüsen, ähnlich wie es z. B. GABE (1956/57) bei der Histogenese der Glandula submaxillaris der Ratte diskutiert. Die Glandula submaxillaris dieses Tieres ist bei der Geburt zunächst rein serös; in ihren Drüsenzellen sind zu dieser Zeit Zymogenkörnchen darstellbar. Die mukösen Zellen erscheinen erst einige Tage später, um dann so stark zuzunehmen, daß bereits am 5. Tag nach der Geburt nur noch selten seröse Zellen zu finden sind. GABE erwägt, ob alle mukösen Zellen vor Aufnahme ihrer Schleimproduktion durch ein seröses Stadium hindurchgehen. Auch für die Brunnerschen Drüsen des Kaninchens ist ein derartiger Vorgang nicht vollständig auszuschließen, wenn auch entsprechende Übergangsstadien nicht beobachtet werden. Möglicherweise werden sie nicht erkannt, da sie kaum einwandfrei gegen indifferentere Zellen und unreife Formen der hellen und dunklen Zellen abgegrenzt werden können. Sollten aber derartige Übergänge wirklich vorkommen, dürften sie eine untergeordnete Rolle spielen. Wie es GABE für die mukösen Zellen der Glandula submaxillaris der Ratte annimmt, sind auch in den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens die große Mehrzahl der hellen Zellen wahrscheinlich von ihrer mitotischen Entstehung an als Schleimzellen determiniert.

Unsere *Experimente*, die nach ihrem Umfang nur der Orientierung dienen können, sollten das Problem des Vorkommens zwei verschiedener Zellarten in den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens von der funktionellen Seite beleuchten. Insbesondere stellte sich die bisher noch nicht bearbeitete Frage, ob beide Zellarten auch *funktionell unabhängig voneinander sind*. Ein Hinweis hierauf könnte in der elektiven Hypertrophie der dunklen Zellen nach Unterbindung des Ductus

pancreaticus gesehen werden (TSCHASSOWNIKOW 1928 a, HAASE 1938). Bei Hunger und nach Fütterung reagieren dagegen beide Zellarten in gleichem Sinne, ein Ergebnis, das seit langem bekannt ist (TSCHASSOWNIKOW 1928 a u. a.) und von uns bestätigt wurde. Neu ist die Beobachtung, daß in den dunklen Zellen während der *Stapelphase* eine *Verstärkung der Basophilie*, nach *Sekretausschüttung* eine *Abschwächung* auftritt. Ähnlich verhalten sich unter entsprechenden Bedingungen die exokrinen Pankreaszellen der Maus (HUBER 1949); hierin liegt eine weitere Parallele zwischen beiden Zellarten.

Zu einer *elektiven Reizung* der hellen Zellen führten die Pilokarpininjektionen. Die von uns verwendete Dosierung war relativ hoch (30 mg/kg). Es traten ausgedehnte Allgemeinerscheinungen und in einem Fall der Exitus 1 $\frac{1}{2}$ Std nach der Injektion auf. Die hellen Zellen reagieren schon innerhalb einer halben Stunde mit maximaler Sekretausschüttung. Ebenso werden die Becherzellen entleert. Beschädigungen des Stäbchensaumes und der Epithelzellen an den Zottenspitzen sind wahrscheinlich Folgen übersteigerter Darmmotorik. Ein Neubeginn der Schleimproduktion in den hellen Zellen ist 2 Std nach der Reizung festzustellen. Die Art der Schleimbildung unterscheidet sich nicht von jener während der Differenzierung der hellen Zellen.

Im Gegensatz zu den hellen Zellen reagieren die *dunklen* auf Pilokarpinreizung kaum. Der Zymogenkörnchenbestand bleibt etwa unverändert. Lediglich die Basophilie nimmt geringfügig ab. Bemerkenswert ist, daß sich die exokrinen Pankreaszellen des Kaninchens völlig gleichsinnig verhalten, obgleich nach HIRSCH (1932) u. a. auf Pilokarpinreiz eine Ausschüttung von Zymogenkörnchen erfolgen sollte. Unsere Befunde entsprechen vielmehr denen von POPPE (1956) und BECKER (1957), die im Pankreas der Ratte ebenfalls keine Zymogenentleerung erhielten. Möglicherweise erklären sich diese Widersprüche aus unterschiedlichen Pilokarpindosierungen. Außerdem scheint die Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten außerordentlich verschieden zu sein. Bei mehrfachen Gaben soll es sogar zur Gewöhnung kommen (BECKER 1957).

Zur Erklärung der von uns erreichten Pilokarpinwirkung kann berücksichtigt werden, daß es im Pankreas zwei sich ergänzende Sekretionsformen gibt: die Produktion eines sehr dünnflüssigen, alkalireichen, aber fermentarmen Bauchspeichels (Hydrochylie) und andererseits die eines eiweißreichen Sekretes (Proteochylie) (BECKER 1957). Nur in letzterem Fall kommt es zur Extrusion von Zymogengranula. Die Hydrochylie dagegen erfolgt durch die Isthmusepithelien des Gangsystems, die morphologisch enge Beziehung zu Kapillaren besitzen. Pilokarpin bewirkt nach BECKER beim Pankreas der Ratte nur eine Hydrochylie, jedoch keine Proteochylie.

Eine Reizwirkung auf die dunklen Zellen sollte durch die Einbringung von Natriumoleat in das Duodenum erzielt werden, da BECKER bei der Ratte unter gleichen Umständen eine kräftige Proteochylie der Pankreaszellen auslösen konnte. Aus unklaren Gründen führten aber unsere Experimente bei allen drei Versuchstieren in Pankreas und Brunnerschen Drüsen nur zu einer unbedeutenden Abnahme der Zymogengranula und der Basophilie. Ob dieser Fehlschlag damit zusammenhängt, daß beim Kaninchen die von uns verwendete Narkose hemmend auf die Reizbarkeit des Pankreas wirkt, müßte geklärt werden. Für die Brunnerschen Drüsen ist eine mehrere Stunden dauernde Sekretionshemmung durch

Anaesthetika (Luminal, Äther) nachgewiesen (WRIGHT, JENNINGS, FLOREY und LIUM 1940), ein Effekt, der der Atropinwirkung ähneln soll.

Zusammenfassung

1. Die Organo- und Histogenese der Brunnerschen Drüsen des Kaninchens wird an 34 Embryonen und 44 Jungtieren unter Berücksichtigung der Duodenalhistogenese untersucht. Die Brunnerschen Drüsen des Kaninchens stellen, verglichen mit denen anderer Säugetiere und des Menschen, einen Sonderfall dar, da sie aus zwei Zelltypen, den „hellen“ und „dunklen“ Zellen bestehen.

2. Die Bildung der Zotten beginnt im Duodenum des Kaninchens etwa um die Mitte, die der Krypten gegen Ende der Embryonalzeit. Einen Tag vor der Geburt können hohle, aus dem Kryptengebiet in das darunterliegende Mesenchym einsprossende Schläuche als Anlagen Brunnerscher Drüsen bezeichnet werden.

3. Die Entwicklung der Brunnerschen Drüsen erfolgt zuerst in Pylorusnähe und schreitet parallel mit der Differenzierung des Duodenum von kranial nach kaudal fort. Gleichzeitig machen sich während der Entwicklung der Drüse die späteren Unterschiede zwischen den einzelnen Duodenalabschnitten in der Zusammensetzung aus hellen und dunklen Zellen bemerkbar.

4. Dunkle Zellen, erkennbar an ihrem Zymogenkörnchengehalt, finden sich ganz vereinzelt schon einen Tag vor der Geburt, häufiger bei neugeborenen Tieren im pylorusnahen Darmteil. Sie vermehren sich besonders in den ersten Lebenstagen stark. Die Entwicklung der dunklen Zellen ist unabhängig von der früher erfolgten Pankreasdifferenzierung.

Die Basophilie des Zytoplasmas der dunklen Zellen wird durch die Methylenblau-Pufferfärbung bei p_H 4,7 vom 14., bei p_H 3,6 vom 18. Tag an deutlich. Im Verlauf weiterer Wochen erreicht sie die endgültige Ausprägung.

5. Die Muscularis mucosae des Kaninchenduodenum differenziert sich zwischen dem 1. und 5. Tag nach der Geburt.

6. Durch die PAS-Reaktion werden die hellen Zellen in Pylorusnähe 4—5, in der Mitte des Duodenum 10—12 Tage nach der Geburt erkennbar. Mit Astra-blau bei p_H 0,2 werden letztere erst vom 14. Tag an dargestellt. Dieser Unterschied beruht wahrscheinlich darauf, daß die zunächst neutralen Mucopolysaccharide etwas später mit Schwefel- oder Phosphorsäure verestert werden.

7. Morphologische und histochemische Beobachtungen wurden an ausge-reiften Brunnerschen Drüsen von 14 Kaninchen durchgeführt. Eine elektive Darstellung der hellen Zellen gelingt mit Astra- und Alcianblau in stark sauren Lösungen. Das basal gelegene Ergastoplasma der dunklen Zellen wird mit Methylenblau bei p_H 3,6 elektiv angefärbt. Die Färbung ist auf anwesende Ribonukleinsäuren zurückzuführen. Eine deutliche Darstellung der Zymogenkörnchen der dunklen Zellen ist vor allem durch die Phasenkontrastmikroskopie und die metachromatische Reaktion mit Dichlorpseudoisocyanin möglich.

8. Durch Vergleich der dunklen Zellen mit den exokrinen Pankreaszellen bei Anwendung einiger für diesen Zweck neuer Methoden (Phasenkontrastmikroskopie, Methylenblau-Pufferfärbung, Reaktion mit Dichlorpseudoisocyanin, SH-Gruppen-Nachweis, Ninhydrin-Schiff-Reaktion) wird die Identität beider Zellarten weiter bestätigt.

9. Experimentelle Befunde wurden an 14 Versuchs- und Kontrolltieren erhoben. Bei Hungertieren kommt es in beiden Zellarten der Brunnerschen Drüsen zur Speicherung des jeweiligen Sekretes. In den dunklen Zellen verstärkt sich außerdem die Basophilie. Auf Fütterungsreiz reagieren beide Zellarten mit Sekretausschüttung.

10. Im Experiment scheint eine weitgehend getrennte Reizung beider Zellarten möglich zu sein. Pilocarpininjektion wirkt besonders kräftig auf die hellen Drüsenanteile (Sekretausschüttung, Abflachung des Drüsenepithels, Erweiterung des Drüsenlumens), kaum dagegen auf die dunklen. Auch in den exokrinen Pankreaszellen sind der Bestand an Zymogengranula und die Basophilie des Ergastoplasmas nicht merklich vermindert.

11. Intraduodenale Natriumoleat-Injektion bewirkt eine geringe Ausschüttung von Zymogenkörnern aus den dunklen Zellen, etwas stärker aus Pankreaszellen. Eine schwache Wirkung auf die hellen Zellen wird gleichfalls beobachtet. Der unerwartet geringe Sekretionsreiz der Seifenlösung ist möglicherweise durch die Narkose bedingt.

Literatur

- ALTMANN, H. W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. In Handbuch der allgemeinen Pathologie. Bd. II 1. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- ANILE, A.: Le glandole duodenali o del Brunner. Napoli 1903.
- BARNETT, R. J., and A. M. SELIGMAN: Histochemical demonstration of protein-bound sulfhydryl groups. *Science* **116**, 323—327 (1952).
- BECKER, V.: Sekretionsstudien am Pankreas. Zwangl. Abh. aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie, Heft 1. Stuttgart: Georg Thieme 1957.
- BENSLEY, R. R.: The structure of the glands of Brunner. The decennial publ. Univ. of Chicago **10**, 279—326 (1903).
- BENTKOWSKI, K.: Beiträge zur Histologie der Schleimhaut des Magens und des Duodenums. *Med. Ztg* 1876. Zit. nach PATZELT 1936.
- BLOOM, G., and J. W. KELLY: The copper phthalocyanine dye „Astrablau“ and its staining properties, especially the staining of mast cells. *Histochemie* **2**, 48—57 (1960).
- BOERNER-PATZELT, D.: Über die Verwandtschaft der Pylorusdrüsen und Duodenaldrüsen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **51**, 555—580 (1942).
- BOGOLOMETZ, A. A.: Beitrag zur Morphologie und Mikrophysiologie der Brunnerschen Drüsen. *Arch. mikr. Anat.* **61**, 656—666 (1902).
- BRACHET, J.: Ribonukleinsäure und Proteinsynthese. In Handbuch der Histochemie. Bd. III/2. Stuttgart: Gustav Fischer 1959.
- BURKL, W.: Untersuchungen über die Pylorus- und Duodenaldrüsen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **56**, 327—414 (1950).
- Zur Klassifizierung der Schleimdrüsensekrete in der Histologie. *Z. Zellforsch.* **39**, 74—84 (1953).
- CASTELLANT, J. L. A.: Quelques recherches sur les glandes de Brunner. Thèse pour le doctorat en médecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lille, 1898.
- DEANE, H. W., and K. R. PORTER: A comparative study of cytoplasmic basophilia and the population density of ribosomes in the secretory cells of mouse seminal vesicle. *Z. Zellforsch.* **52**, 697—711 (1960).
- DEKHUIZEN, M. C.: Über die Brunnerschen Drüsen des Kaninchens. *T. Nederl. Dierk. Ver.* 1898. Zit. nach PATZELT 1936.
- FLOREY, H. W.: The Croonian Lecture: Mucin and the protection of the body. *Proc. roy. Soc. B* **143**, 147—158 (1955).
- and H. E. HARDING: Further observations on the secretion of Brunner's glands. *J. Path. Bact.* **39**, 255—276 (1934).
- , R. D. WRIGHT and M. A. JENNINGS: The secretions of the intestine. *Physiol. Rev.* **21**, 36—69 (1941).

- GABE, M.: Contribution à l'histogénèse des glandes salivaires chez la souris albinos. *Z. Zellforsch.* **45**, 74—95 (1956/57).
- GEDIGK, P.: Histochemische Darstellung von Kohlenhydraten. *Klin. Wschr.* **30**, 1057—1065 (1952).
- GOMORI, G.: Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **42**, 23—26 (1939).
- GRAUMANN, W.: Zur Charakterisierung epithelialer Schleimstoffe. *Anat. Anz., Erg.-H. z.* **106/107**, 103—107 (1960).
- Bestimmung der „Stärke der Metachromotropie“. *Acta histochem. (Jena) Suppl.* **2**, 217—220 (1961).
- GROSSMAN, M. J.: The glands of Brunner. *Physiol. Rev.* **38**, 675—690 (1958).
- HAASE, J.: Morphologische und experimentelle Untersuchungen über die Brunnerschen Drüsen des Kaninchens. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* **108**, 74—81 (1938).
- HÄUSLER, G.: Zur Technik und Spezifität des histochemischen Carboanhydrasenachweises im Modellversuch und in Gewebsschnitten von Rattennieren. *Histochemie* **1**, 29—47 (1958).
- HEIDENHAIN, M.: Über die teilungsfähigen Drüseneinheiten oder Adenomeren, sowie über die Grundbegriffe der morphologischen Systemlehre. *Arch. Entwickl.-Mech. Org.* **49**, 1—178 (1921).
- HIRSCH, G. C.: Lebendbeobachtungen der Restitution des Sekretes im Pankreas. I. Die Restitution der Granula nach Pilokarpinreizung, ihr Ort und ihre Zeit. *Z. Zellforsch.* **15**, 36—68 (1932).
- Der Arbeitszyklus im Pankreas und die Entstehung der Eiweiße. *Naturwissenschaften* **45**, 349—358 (1958).
- Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen. Mit einem Exkurs über Ergastoplasma und Golgi-Körper. *Naturwissenschaften* **47**, 25—35 (1960).
- HIRSCH, T. v.: Phasenkontrastmikroskopie histologischer Schnitte. *Z. wiss. Mikr.* **61**, 337—350 (1952/54).
- HOSODA, K.: Über die vergleichende Anatomie der Duodenaldrüsen bei den Rodentien, insbesondere die feinere Struktur der dunklen Endstücke derselben Drüsen. *Yokohama med. Bull.* **7**, 170—181 (1956).
- HUBER, P.: Beitrag zur Kenntnis zytologischer Vorgänge bei der Bildung von Sekretstoffen in der Azinuszelle des Pankreas. *Z. Zellforsch.* **34**, 428—470 (1949).
- KUCZYNSKI, A.: Beitrag zur Histologie der Brunnerschen Drüsen. *Internat. Mschr. Anat. Physiol.* **7**, 419—446 (1890).
- LELLIE, R. D.: The xanthidrol reaction for pyrroles and indoles in histochemistry: zymogen granules, lens, enterochromaffin and melanins. *J. Histochem. Cytochem.* **5**, 188—195 (1957).
- LIPP, W.: Histochemische Methoden. München: Oldenbourg 1954—1959.
- MARTIN, B. F.: Lipase in gland duct epithelium and in mucus-secreting cells. *Nature (Lond.)* **172**, 1048—1049 (1953).
- Serous cells in Brunner's glands of the rabbit. *Nature (Lond.)* **174**, 1195—1196 (1954).
- MINOT, C. S., and E. TAYLOR: Normal plates of the development of the rabbit (*Lepus cuniculus* L.). Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, 5. Heft. Jena: Gustav Fischer 1905.
- MOE, H.: The ultrastructure of Brunner's glands of the cat. *J. Ultrastruct. Res.* **4**, 58—72 (1960).
- MUNGER, B. L.: A phase and electron microscopic study of cellular differentiation in pancreatic acinar cells of the mouse. *Am. J. Anat.* **103**, 1—19 (1958).
- NEUMANN, K., u. G. KOCH: Übersicht über die feinere Verteilung der Succino-Dehydrogenase in Organen und Geweben verschiedener Säugetiere, besonders des Hundes. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **295**, 35—61 (1953).
- PALADE, G.: Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 417—421 (1956).
- PATZELT, V.: Die feinere Ausbildung des menschlichen Darmes von der fünften Woche bis zur Geburt. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **27**, 269—518 (1931).
- Der Darm. In *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bd. V/3. Berlin: Springer 1936.

- PIPAN, N.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Differenzierung des embryonalen Pankreas der Maus. *Z. Zellforsch.* **52**, 291—314 (1960).
- POPPE, A.: Sekretionsstudien am Rattenpankreas. Inaug.-Diss. Berlin (West) 1956.
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München: Leibniz 1948.
- SCHMIDT, F. C.: Ergastoplasma. *Dtsch. med. Wschr.* (im Druck).
- SCHWALBE, G.: Beiträge zur Kenntnis der Drüsen in den Darmwandungen, insbesondere der Brunnerschen Drüsen. *Arch. mikr. Anat.* **8**, 92—140 (1872).
- SJÖSTRAND, F., and V. HANZON: Ultrastructure of Golgi apparatus of the exocrine pancreas cells. *Experientia* (Basel) **10**, 415—429 (1954).
- TEHWER, J.: Beiträge zur Kenntnis der Histologie der Duodenaldrüsen bei den Haussäugetieren. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **18**, 71—91 (1929).
- TSCHASSOWNIKOW, N.: Über Veränderungen der Brunnerschen Drüsen bei Kaninchen nach Unterbindung des Ductus pancreaticus. *Anat. Anz.* **65**, 17—27 (1928a).
- Über Eigenartigkeiten in der Struktur der Brunnerschen Drüsen beim Kaninchen und Hasen und ihre Beziehungen zu den Pylorusdrüsen. *Anat. Anz.* **65**, 28—45 (1928b).
- WALLRAFF, J.: Eine vergleichende gewebs- und methodenkritische Untersuchung der Eiweiß-, Kohlenhydrat- und Fettstoffkomponenten komplexer Organbestandteile. *Histochemie* **1**, 343—390 (1959).
- WRIGHT, R. D., M. A. JENNINGS, H. W. FLOREY and R. LIVING: The influence of nerves and drugs on secretion by the small intestine and an investigation of the enzymes in intestinal juice. *Quart. J. exp. Physiol.* **30**, 73—120 (1940).

HELMUT WOLFF, Anatomisches Institut der Universität Kiel, Neue Universität,
Eingang F 1

Aus dem Pathologischen Institut der Humboldt-Universität Berlin, dem Rudolf-Virchow-Haus der Charité (Direktor: Prof. Dr. L.-H. KETTLER)

DEGENERATION VON LEBERMITOCHONDRIEN NACH AMMONIUM-INTOXIKATION

Von

H. DAVID und L.-H. KETTLER

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Dezember 1960)

In ausgedehnten tierexperimentellen Untersuchungen von KETTLER (1949) waren nach *vorübergehender totaler* Sperre der Zufuhr des Pfortaderblutes zur Leber zahlreiche Einzelzellnekrosen im Parenchym aufgetreten, deren hypoxämische Genese damals abgelehnt wurde. Es lag näher, als Ursache für ihre Bildung die Einwirkung toxischer, durch Stauung vermehrter Produkte aus dem Darmkanal anzunehmen. Zur weiteren Klärung wurden jetzt erneute Versuche an Kaninchen und Ratten durchgeführt. In einer Versuchsreihe wurde der Leber auch eine Ammoniumlösung durch Injektion in den Pfortaderkreislauf angeboten. Hierbei traten eigenartige Mitochondrienveränderungen auf, deren Seltenheit und besondere Genese eine Veröffentlichung gerechtfertigt erscheinen lassen.

Material und Methodik

Männlichen (etwa 400 g schweren, mit einer Standardkost gefütterten) Ratten wurden in Äthernarkose jeweils einmal maximal 50 mg N/kg Körpergewicht in Form einer 9,6%igen Lösung von Ammoniumkarbonat in die Pulpa der durch Laparotomie freigelegten Milz injiziert. Die Tiere wurden nach 6—22 Std bei im allgemeinen gutem Allgemeinbefinden durch Nackenschlag und Ausbluten getötet.

Die bemerkenswerten elektronenmikroskopischen Untersuchungen erhoben wir besonders bei einer 440,0 g schweren männlichen Ratte (Y 16), die 22 Std nach Injektion von 0,4 ml der 9,6%igen Ammoniumkarbonatlösung getötet wurde. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden Teile aus den makroskopisch unveränderten und dem gefleckten linken Hauptlappen der Leber entnommen. Fixierung in 1%iger isotonischer, gepufferter OsO_4 -Lösung nach SJÖSTRAND. Dehydrierung in aufsteigender Acetonreihe, Einbettung in Vestopal W nach RYTER und KELLENBERGER (1958). Herstellung der Ultradünnschnitte mit Ultramikrotomen nach NIKLOWITZ. Beurteilung der Schnitte mit einem elektrostatischen Elektronenmikroskop Typ D₂ der Firma VEB Carl Zeiss Jena (Strahlspannung von 45 bis 50 kV). Elektronenmikroskopische Vergrößerung 7200-, 12800-, 23200fach.

Befunde

Makroskopische Beobachtungen. Bei der Sektion der 11,0 g schweren Leber sind 4 Lappen sowie der Processus papillaris makroskopisch unauffällig (rotbraun mit leichtem gelblichem Schimmer). Demgegenüber läßt der *linke Hauptlappen* umschriebene, etwa linsengroße, leicht rötliche Herde erkennen, die Nekrosen ähnlich sehen. Deutliche Gefäßzeichnung.

Lichtmikroskopische Beobachtungen. Die makroskopisch unauffälligen Lappen sind auch histologisch wenig verändert. Ganz vereinzelt liegen Einzelzellnekrosen vor. Die Basophilie des Zytoplasmas ist in wenigen Zellen reduziert. Man findet

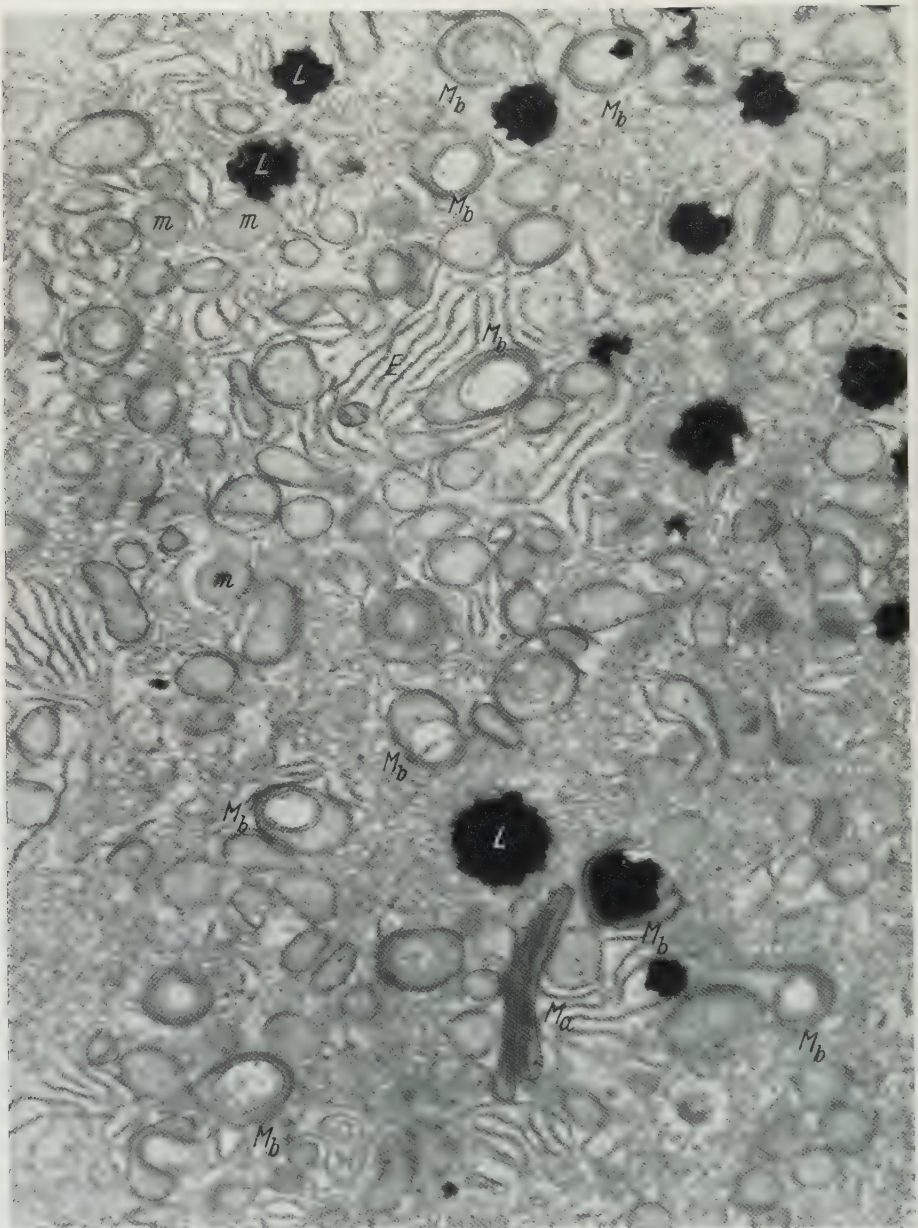


Abb. 1. Übersicht über einen Teil einer Leberzelle aus dem Randbereich der Herde. Starke Polymorphie der Mitochondrien. Neben einer geringen Zahl regelrecht gebildeter ein membranhaltiges Mitochondrion (M_a) und eine große Zahl „schüsselartig“ transformierter Mitochondrien, in verschiedenen Ebenen angeschnitten (M_b). L Fetttropfen, E Ergastoplasma, m microbodies. Aufn. Nr. D 1660/60. Elmi. Vergr. 7200:1. Gesamtvergr. 14400:1

eine leichte periphere Verfettung der Leberzellen und geringe Fettablagerung in Kupfferschen Sternzellen, ferner eine Einzelzellverfettung in den zentralen Läppchenabschnitten.

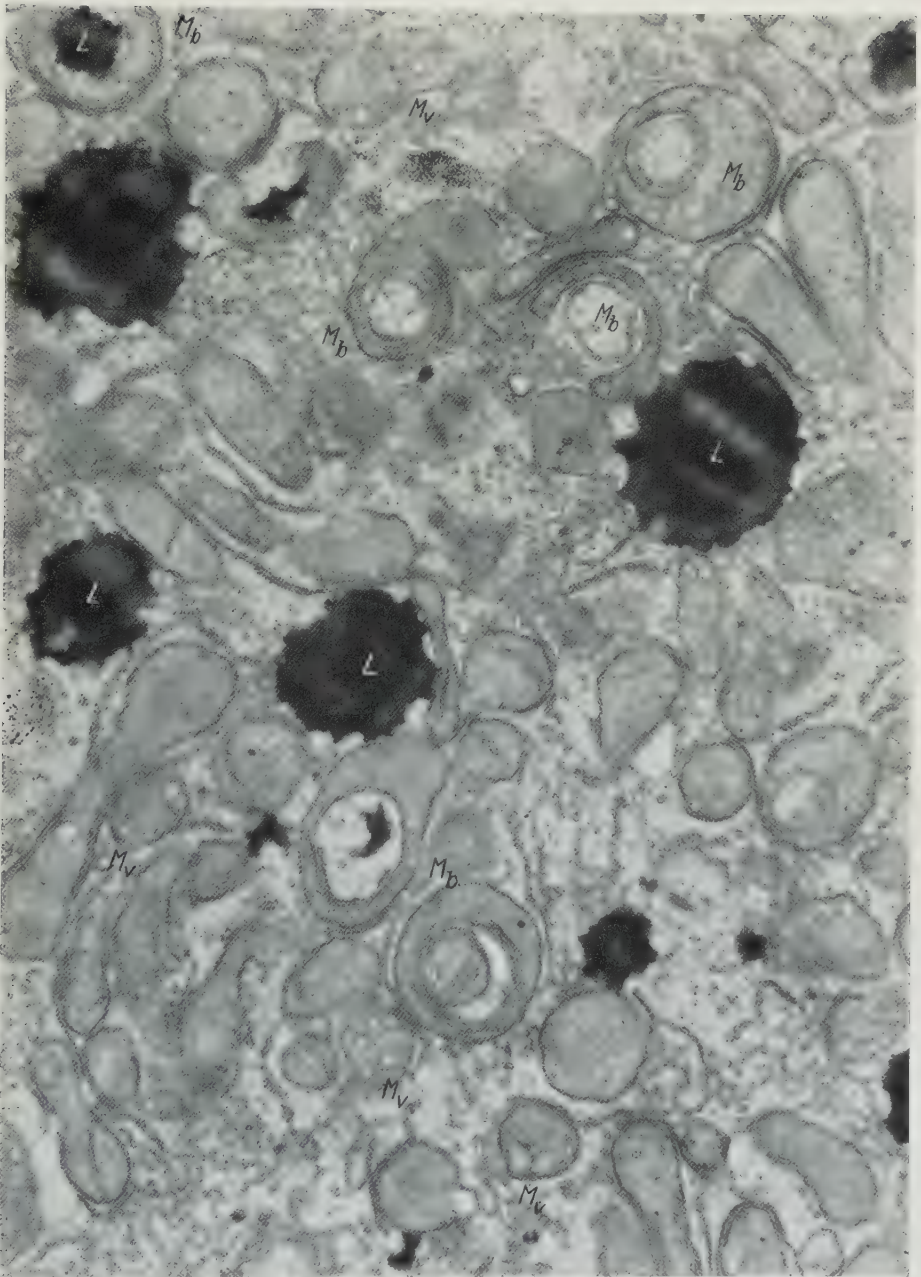


Abb. 2. Ausschnitt aus einer anderen Leberzelle mit vielfältig veränderten Mitochondrien. M_b in verschiedenen Ebenen angeschnittene „schüsselartig“ umgewandelte Mitochondrien, zum Teil mit Einschluß von sphärischen Mitochondrien oder Fetttropfen. M_v Mitochondrien mit vakuolärer Umwandlung der Cristae mitochondriales. L Fetttropfen. Aufn. Nr. D 1656/60. Elmi. Vergr. 12 800:1. Gesamtvergr. 25 600:1

Die Untersuchung des makroskopisch gefleckten linken Hauptlappens läßt Gruppen- oder Massennekrosen nicht erkennen. Eine feintropfige Verfettung

ist in der Läppchenperipherie festzustellen. Die basophilen Schollen scheinen nicht vermindert. Die Einzelzellnekrosen (zum Teil als hyaline bodies) sind wenig vermehrt. Die spezielle *Mitochondrienfärbung* nach M. HEIDENHAIN zeigt zarte, im Schnitt durchweg kugelförmige Mitochondrien, die zahlenmäßig nicht reduziert

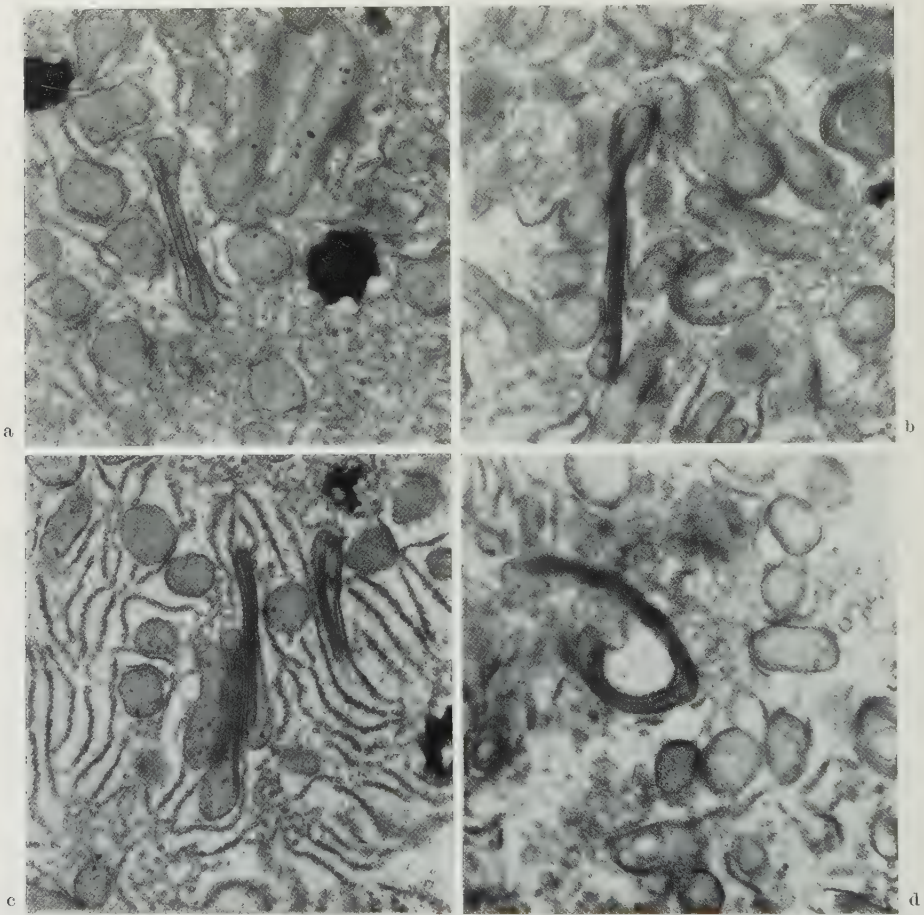


Abb. 3a—d. Verschiedene Entwicklungsstufen der membranhaltigen Mitochondrien. In Abb. 3a erst eine regelrecht gebildete Membran im Mitochondrienmittelstück; in Abb. 3b verlängertes Mitochondrion mit mehreren Innenmembranen und aufgetriebenen Polen; in Abb. 3c eine Gruppe umgewandelter Mitochondrien und in Abb. 3d kommaförmiges membranhaltiges Mitochondrion mit einem aufgetriebenen Pol. Elmi. Vergr. 12 800:1. End.-Vergr. 17 000:1

erscheinen. Sie sind lediglich etwas verschieden groß. Irgendwelche Formbesonderheiten lassen sich bei Untersuchung mit Ölimmersion nicht nachweisen. — Die Kupfferschen Sternzellen sind stellenweise vermehrt; man erkennt kleine rundzellige Granulome im Läppchenbereich.

Elektronenmikroskopische Beobachtungen. Im Grenzbereich der gefleckten Bezirke des linken Hauptlappens zeigt die submikroskopische Struktur des Kerns, des Nucleolus und des Ergastoplasmas keine wesentlichen Besonderheiten. Dagegen lassen sich bemerkenswerte *Veränderungen der Mitochondrien* erkennen, die auf zwei grundsätzliche Formen zurückzuführen sind.

In fast allen Zellen (Abb. 1) sind — jedoch immer nur in Einzelfällen — fadenartige Verlängerungen und Verschmälerungen der Mitochondrienform zu beobachten. Außerdem kommt es zu Auftreibungen beider Pole (Abb. 4). Hier



Abb. 4. In Bildmitte zwei verlängerte Mitochondrien mit Ausfüllung des Mittelteiles mit Membranen. Aufgetriebene Pole. In einem Pol mehrere Mitochondriengranula. Im unteren Bildteil Querschnitt durch ein „schüsselförmig“ verändertes Mitochondrion mit eingeschlossenem Fetttropfen. Aufn. Nr. D 1655/60. Elmi. Vergr. 23200:1. End-Vergr. 50000:1

sind noch vereinzelte Cristae mitochondriales zu erkennen, die senkrecht zur Längsachse verlaufen und verschieden weit in die Matrix hineinragen. Öfter sind auch ein bis mehrere 100 Å große Mitochondriengranula sichtbar. In dem verschmälerten Mittelteil der Mitochondrien treten zuerst Membranteilstücke parallel zur Längsachse auf (Abb. 3a—d). Danach ist eine aus 2 osmiphilen Lamellen

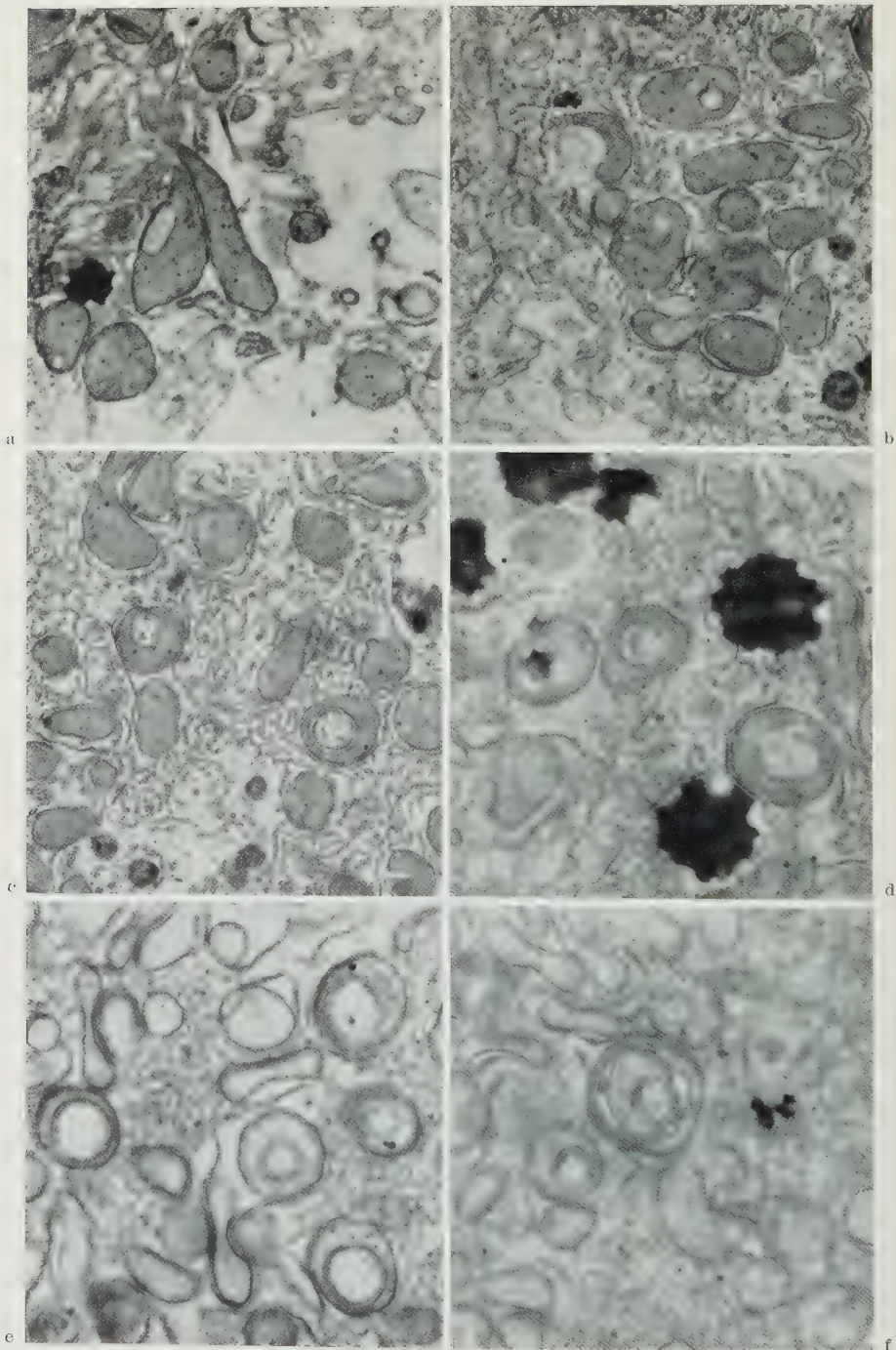


Abb. 5a—f. Ausschnitte aus verschiedenen Leberzellen mit vakuolär und „schüsselförmig“ transformierten Mitochondrien. a Mitochondrien mit kleinen Hohlraumbildungen. b Vakuolenbildung innerhalb der Cristae mitochondriales und Übergang zu größeren Vakuolen. c Senkrecht und schräg angeschnittenes „schüsselförmiges“ Mitochondrion. d Verschieden angeschnittene Mitochondrien, in einem eingeschlossenen Fetttropfen. e Neben „schüsselförmigen“ Mitochondrien Hantelformen. f Von den Ausläufern eines „schüsselförmigen“ Mitochondrions umgebenes sphärisches Mitochondrion = beginnende „Chondriosphären“-bildung. Elmi. Vergr. 12 800:1. End.-Vergr. 17 000:1

mit einem osmiophoben Zwischenraum aufgebaute Membran zu erkennen, die im Gebiet der Pole entweder verdünnt oder mit einer Verbindung der beiden Lamellen endet. Bald sind mehrere, meist einer Außenmembran anliegende Membranen sichtbar. Schließlich füllen etwa 8–10 Membranen das gesamte

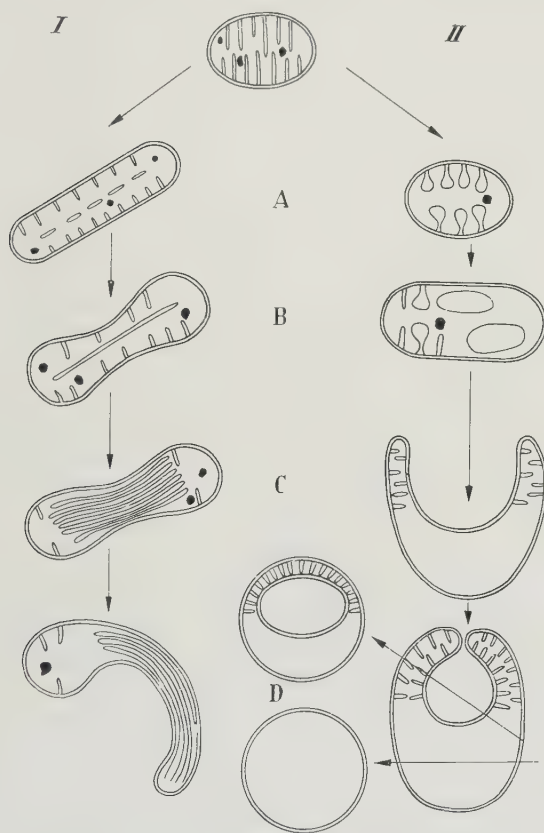


Abb. 6. Schema der beiden Formen der Mitochondrientransformation. *IA* Längliches Mitochondrion mit beginnender Ausbildung einer Längsmembran; *IB* Neuentstandene Membran im Mittelteil bei Vergrößerung beider Pole; *IC* Vollständige Anfüllung des Mitochondrienmittelstückes mit Membranen; *ID* „Komma“- oder „kaulquappen“-artige Transformation mit Auftreibung eines Poles und Membranansammlung im übrigen Mitochondrienteil. *IIA* Vakuoläre Ausweitung der Cristae mitochondriales; *IIB* Intramitochondriale Vakuolenbildung; *IIC* „Schüssel“-artige Umwandlung des Mitochondrion mit fadenförmiger Ausziehung und Krümmung beider Pole bei Erhaltenbleiben der regelrechten Innenstruktur. Fehlen der Cristae mitochondriales im verdickten Mittelteil; *IID* Verstärkung der Vorgänge von *IIC*. Zangenartige Vereinigung der Pole und dadurch Ausbildung eines Hohlraumes. Die beiden Pfeile stellen verschiedene Schnittrichtungen dar

Mittelstück der Mitochondrien aus, während die beiden Pole freigelassen werden. Die Gesamtdicke der Membranen beträgt $197 (\pm 11) \text{ \AA}$, die der osmiophilen Lamellen jeweils $59 (\pm 7) \text{ \AA}$, die der osmiophoben Zwischenschicht $78 (\pm 6) \text{ \AA}$. In vielen Fällen krümmen sich die umgewandelten Mitochondrien und weisen oft eine komma- oder kaulquappenartige Gestalt auf (Abb. 3d, 6).

Wesentlich häufiger sind andersartige Mitochondrienveränderungen zu sehen (Abb. 2). Die ovalen Mitochondrien werden zum Teil abgerundet, zum Teil länglich oder fadenförmig. Die Matrix ist homogen, nur selten sind osmiophile Granula

zu finden. Die Cristae mitochondriales werden kürzer, die osmiophobe Zwischenschicht ist erheblich verbreitert und dehnt sich immer weiter aus, bis es zur Bildung kleiner Vakuolen kommt (Abb. 2, 5, 6). Diese wachsen zu größeren Hohlräumen an, die das Volumen eines halben Mitochondrions einnehmen können, während die übrigen Teile der Matrix mitochondrialis unverändert erscheinen. In vielen Fällen sind auch Mitochondrien ohne Cristae mit einer vollkommen homogenen Matrix zu erkennen. Die Außenmembran ist häufig mehrfach konturiert: die einzelnen Lamellen erscheinen miteinander verfilzt und gehen anscheinend ineinander über. Eine große Zahl von Mitochondrien zeigt eine fadenartige Ausziehung beider Pole, während der Mittelteil verdickt ist (Abb. 1, 2, 5). Die ausgezogenen Pole krümmen sich krebsscherenartig zusammen und bilden einen mehr oder weniger vollständig geschlossenen Hohlraum. Das Gesamtbild ähnelt einer „Schüssel“form. Verschieden verlaufende Schnitte durch diese erklären das Auftreten der einzelnen Erscheinungsformen (Abb. 6). Innerhalb des Hohlraumes sind mannigfaltige Zytoplasmabestandteile zu beobachten. Öfters umschließen die veränderten Mitochondrien auch regelrecht geformte sphärische Mitochondrien vollständig (Abb. 5f, 2). Aber auch Fetttropfen (Abb. 1, 2, 4) und Ergastoplasmabestandteile oder Ferritingranula sind in den Hohlräumen zu sehen. Zwischen derartig transformierten Mitochondrien sind in großer Zahl „microbodies“ mit einfachen Außenmembranen (Abb. 1) zu finden. Das Golgi-Feld ist in vielen Fällen hypertrophiert.

Diskussion

Abweichungen der Mitochondrienstruktur vom Normalbild äußern sich im allgemeinen in Vergrößerung und Abrundung dieser Zellorganellen sowie in Verminderung der Größe und Zahl der Cristae und in Herauslösung der Matrixsubstanz (SJÖSTRAND 1956, POLICARD und BAUD 1958, MILLER 1959, POHL 1959, THIEL 1959). Das Auftreten abweichender Membran- und Lamellensysteme innerhalb von Mitochondrien ist in der Leber nur vereinzelt bei Cholestase beschrieben worden (EKHOLM und EDLUND 1958, JEZEQUEL 1959). Die im allgemeinen nicht so regelmäßig wie in unserem Falle angeordneten Membransysteme werden als Myelinfiguren angesehen. Die von uns ermittelten Durchmesser der Membranen liegen an der oberen Grenze der von anderen Untersuchern als Myelinfiguren beschriebenen Gebilde. Wir glauben, daß es sich vielleicht um ähnliche Veränderungen handelt, da die Einbettung in Vestopal W nach RYTER und KELLENBERGER (1958) die regelrechten Größenverhältnisse der einzelnen Membranen erhält und nicht zu deren Zusammenfließen im Elektronenstrahl führt, wie es bei der von den früheren Untersuchern angewandten Methacrylateinbettung der Fall ist. Das Auftreten von atypischen Membranen in Mitochondrien parallel zur Längsachse ist auch in anderen Organen vereinzelt beobachtet worden, so im Hoden der Heuschrecke von TAHMISIAN, POWERS und DEVINE (1956), im männlichen Teil des Ovotestis von *Helix aspersa* von POWERS, EHRET, ROTH und MINICK (1956), während der Spermatogenese bei *Viviparus contectoides* von KAYE (1957), in den Leydigischen Zwischenzellen des Rattenhodens von CHRISTENSEN und CHAPMAN (1959) und in den Zellen der Zona fasciculata und reticularis der Nebennierenrinde des Hamsters (DE ROBERTIS und SABATINI 1958). Keiner dieser Untersucher gibt aber eine sichere Erklärung dieser Erscheinungen.

Die Möglichkeit der Entstehung dieser Membranen innerhalb des Mitochondrienkörpers infolge Faltung der Außenmembran ist unseres Erachtens wegen der Regelmäßigkeit der Bilder nicht wahrscheinlich. Es ist auch zweifelhaft, ob diese Erscheinungen etwa Übergänge zu Fetttropfen darstellen; Anhaltspunkte hierfür haben wir in keinem Falle ermitteln können. Die Möglichkeit der Genese dieser Veränderungen nicht aus Mitochondrien sondern aus Zytosomen (SCHULZ 1959) müssen wir deshalb ablehnen, weil wir in der gesamten Entwicklungsreihe immer echte Mitochondrienanteile wie Cristae und osmiophile Granula beobachtet haben.

Die weiter in den Mitochondrien ermittelte Vakuolisierung einzelner Anteile, ausgehend von den Cristae mitochondriales, ist bisher nur in Mitochondrien der Nebennierenrinde unter verschiedenen Funktionszuständen (LEVER 1956), in Kulturen von Zellen des Zentralnervensystems (DUNCAN und HILD 1960), in den eosinophilen Vorderlappenzellen von *Cottus bubalis* (BARGMANN und KNOOP 1960) sowie in den Leberzellen hungernder Tiere (DAVID 1960) dargestellt worden.

Außerdem kommt es aber auch noch zu erheblichen Formverschiebungen der Mitochondrien. Während sich einmal fadenförmige Mitochondrien bilden, die sich zu einem Ring zusammenschließen, ist bei anderen besonders eine Ausziehung der Pole bei normalem oder verdicktem Mittelteil zu erkennen. Die Polverlängerungen nähern sich dabei zangenartig einander. Ein regelrechter Querschnitt ergibt ein „schüssel“förmiges Bild, während die anderen Erscheinungsformen als Tangential- oder Schrägschnitte zu deuten sind. Ähnliche Mitochondrienveränderungen sind besonders im Hoden beobachtet worden, so während der Spermatogenese beim Skorpion *Euscorpius flavicaudis* von ANDRÉ (1959), bei der Ratte von CHRISTENSEN und CHAPMAN (1959) und in den unreifen β -Zellen des Mäusepankreas während eines bestimmten Entwicklungsstadiums (MUNGER 1958), ferner in der Nebennierenrinde des Hamsters (DE ROBERTIS und SABATINI 1958). Die von den letztgenannten Autoren beschriebene Ausbildung sog. „Chondriosphären“, d.h. die Zusammenlagerung dieser Mitochondrien zu größeren Komplexen mit Degeneration des innersten Mitochondrions haben wir nur in seltenen Fällen sehen können. Häufiger ist der Einschluß von Fett zu beobachten.

Auffällig ist, daß in fast allen Fällen beide Arten der Mitochondrienveränderungen gemeinsam festgestellt worden sind. Diese Tatsache läßt eine gemeinsame Ursache vermuten. Jedoch wird von allen Untersuchern die Ätiologie als unbekannt angegeben, wenn auch embryonales oder schnell wachsendes Gewebe besonders von diesen Erscheinungen betroffen zu sein scheint. Die Vergrößerung der Oberfläche bei den schüsselförmigen Mitochondrien läßt eine erhöhte Aktivität und damit enge Beziehungen zu einer Degeneration annehmen. Die Verbindungen zu den eingeschlossenen Zytoplasmabestandteilen sind immer wesentlich enger als im Normalfall.

Es liegt nahe, in unserem Falle die Zufuhr des Ammoniumkarbonats als Ursache für diese atypische Mitochondriendegeneration anzunehmen. Wir hoffen von weiteren Untersuchungen eine Klärung dieses unseres Wissens erstmalig erhobenen Leberbefundes.

Zusammenfassung

Nach Injektion von Ammoniumkarbonat in den Pfortaderkreislauf waren in der Rattenleber (linker Hauptlappen) Degenerationen von Mitochondrien in zwei

Formen zu finden. Einmal waren parallele Längslamellen und eine kaulquappenförmige Umbildung in ihnen zu beobachten, ferner traten schüsselförmig transformierte Mitochondrien auf. Als Ursache wird die Intoxikation mit Ammoniumkarbonat angenommen.

Literatur

- ANDRÉ, J.: Etude au microscope électronique de l'évolution du chondriome pendant la spermatogénèse du Scorpion *Euscorpis flavicaudis*. J. ultrastruct. Res. **2**, 288—308 (1959).
- BARGMANN, W., u. A. KNOOP: Vakuolenbildung und Mitochondrien. Z. Zellforsch. **51**, 456 bis 466 (1960).
- CHRISTENSEN, A. K., and G. B. CHAPMAN: Cup-shaped mitochondria in interstitial cells of the albino rat testis. Exp. Cell Res. **18**, 576—579 (1959).
- DAVID, H.: Zur submikroskopischen Morphologie der Mitochondrien der Hungerleber. Verh. dtsh. Ges. Path. **44** Tg. 229—232 (1960).
- Die Leber bei Nahrungsmangel und Mangelernährung. Berlin: Akademie-Verlag (1961).
- DUNCAN, D., and W. HILD: Mitochondrial alterations in cultures of the central nervous system as observed with the electron microscope. Z. Zellforsch. **51**, 123—135 (1960).
- EKHOLM, R., and Y. EDLUND: The mitochondria in human normal and cholestatic liver. Proc. Internat. Conf. Electron Microscopy 1958, 273—275.
- JEZEQUEL, A. M.: Dégénérescence myélinique des mitochondries de foie humain dans un épithélioma du cholédoque et un icère viral. J. ultrastruct. Res. **3**, 210—215 (1959).
- KAYE, J. S.: Changes in the fine structure of mitochondria during spermatogenesis in a gastropod. Anat. Rec. **128**, 574—575 (1957).
- KETTLER, L.-H.: Untersuchungen über die Genese von Lebernekrosen auf Grund experimenteller Kreislaufstörungen. Virchows Arch. path. Anat. **316**, 525—574 (1949).
- LEVER, J. D.: Physiologically induced changes in adrenocortical mitochondria. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 313—318 (1956).
- MILLER, F.: Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild. Verh. dtsh. Ges. Path. **42**, 261—332 (1959).
- MUNGER, B. L.: A light and electron microscopic study of cellular differentiation in the pancreatic islets of the mouse. Amer. J. Anat. **103**, 275—312 (1958).
- POHL, W.: Zur Substruktur und Funktion von Leberzellorganellen. Münch. med. Wschr. **101**, 334—336 (1959).
- POLICARD, A., et C. A. BAUD: Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus. Paris: Masson & Cie. 1958.
- POWERS, E. L., C. F. EHRET, L. E. ROTH and O. T. MINICK: The internal organization of mitochondria. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 341—346 (1956).
- ROBERTIS, E. DE, and D. SABATINI: Submicroscopic changes of mitochondria and the liposomes of the adrenocortex in normal hamsters. Anat. Rec. **130**, 403 (1958).
- — Mitochondrial changes in the adrenocortex of normal hamsters. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 667—670 (1958).
- RYTER, A., et E. KELLENBERGER: L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie. J. ultrastruct. Res. **2**, 200—214 (1958).
- SCHULZ, H.: Die submikroskopische Anatomie und Pathologie der Lunge. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- SJÖSTRAND, F. S.: The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. Int. Rev. Cytol. **5**, 456—534 (1956).
- TAHMISIAN, T. N., E. L. POWERS and R. L. DEVINE: Light and electron microscope studies of morphological changes of mitochondria during spermatogenesis in the grasshopper. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 325—330 (1956).
- THIEL, A.: Mitochondrien. Dtsch. med. Wschr. **84**, 2038—2045 (1959).

Professor Dr. L.-H. KETTLER, Pathologisches Institut der Humboldt Universität,
Rudolf Virchow-Haus der Charité, Berlin-N 4, Schumannstr. 20/21

Aus dem Institut für Elektronenmikroskopie an der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. H. RUSKA)

DIE ZELLSTRUKTUR DES DÜNNDARMEPITHEL IN IHRER ABHÄNGIGKEIT VON DER PHYSIKALISCH-CHEMISCHEN BESCHAFFENHEIT DES DARMINHALTS*

II. WASSERLÖSLICHE, GRENZFLÄCHENAKTIVE STOFFE**

Von

CARLA RUSKA

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. Dezember 1960)

In der I. Mitteilung war der Einfluß von Wasser und von wäßrigen NaCl-Lösungen auf die Epithelzellen, auf die verschiedenen, innerhalb der Zellen durch Endomembranen gegeneinander abgegrenzten wäßrigen Mischphasen und auf die Interzellularräume beschrieben worden (C. RUSKA 1960). Durch die Untersuchung der Einwirkung von anionaktiven, kationaktiven und nichtionogenen Netzmitteln sollte geprüft werden, ob eine Herabsetzung der Grenzflächenspannung die Erscheinungen der Wasseraufnahme verändert, und welchen Einfluß das elektrostatische Verhalten der hydrophilen Endgruppen der Netzmittel auf elektronenmikroskopisch sichtbare Bestandteile der wäßrigen Mischphasen sowie auf die Grenzmembranen ausübt. Durch phasenkontrastmikroskopische und nephelometrische Untersuchungen von WITTER und MINK (1958) sind Schwellungen und Aggregationen isolierter Mitochondrien aus der Rattenleber in Abhängigkeit von den physikalisch-chemischen Eigenschaften zugesetzter Netzmittel bekannt. Die Schwellung durch anionaktive Netzmittel wird auf Entfernung einer impermeablen Membran oder auf Permeabilitätserhöhung zurückgeführt. Verklumpungen durch kationaktive Netzmittel können mit der Neutralisierung negativer elektrischer Ladungen in Zusammenhang gebracht werden.

Die grenzflächenaktiven Stoffe zeigen ferner teils aktivierende, teils hemmende Einflüsse auf fermentative Umsetzungen, oder sie verhalten sich auch indifferent. Anionische Netzmittel fördern die Wirkung der Mg-aktivierten Adenosintriphosphatase der Mitochondrien (WITTER und MINK 1958) und hemmen beispielsweise die Trioleinhydrolyse durch Pankreas-Lipase (WILLS 1955). Den kationischen Netzmitteln fehlt eine Wirkung auf die Mg-ATPase, während sie die Trioleinhydrolyse durch Pankreas-Lipase aktivieren. Alle von WITTER und MINK getesteten Netzmittel, auch die nichtionogenen, inhibieren dagegen Dinitrophenol-aktivierte ATPase der Mitochondrien. Bei dieser Hemmung eines Ferment-systems sind wahrscheinlich die allen Netzmitteln gemeinsamen lipophilen Endgruppen auf Lipoide bzw. Lipoproteide wirksam. Die ionogenen Netzmittel können außerdem entsprechend den Ladungen ihrer hydrophilen Gruppen mit entgegengesetzten Ladungen der Proteine reagieren (PUTNAM und NEURATH 1945).

* Teilweise vorgetragen auf der 9. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie in Freiburg, Oktober 1959.

** Durchgeführt mit dankenswerter Unterstützung durch das Kultusministerium des Landes Nordrhein-Westfalen.

Neben dem Ladungscharakter der hydrophilen Gruppen sind auch ihre chemische Natur und die Art des Grundkörpers (aliphatisch, aliphatisch-zyklisch, rein zyklisch) sowie die Beteiligung von Heteroatomen für die Eigenschaften und Wirkungen der Netzmittel von Bedeutung (W. KLING 1953).

Fütterungsversuche mit zahlreichen Verbindungen jeder Ionogenität zeigten, daß anionaktive Stoffe in 0,05—0,5%, kationaktive in 0,001—0,01% und nicht-ionogene in 0,1—1,0% dem Gesamtfutter zugesetzt ohne schädlichen Einfluß bleiben. Höhere Dosen verursachen Störungen im Magen-Darmtrakt, Nierenschädigungen, Nekrosen und zahlreiche andere Vergiftungssymptome (Lit. bei MENKE 1955).

Methoden

Die Durchführung der Versuche am Darm der Maus, die Gewebefixierung mit OsO_4 und die Vestopal-Einbettung sind in der I. Mitteilung beschrieben worden. Die Netzmittel-lösungen wurden stets 10 min in der vorgelagerten Darmschlinge belassen. Außer einem kommerziellen Netzmittelgemisch (1% Pril in Ringerlösung) wurden aus der großen Zahl oberflächenaktiver Substanzen folgende Reinpräparate in Aqua dest. gelöst und auf ihre Wirkung untersucht: Natriumdodecylsulfat $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3\text{Na}$ und Natriumtetradecylsulfat $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{OSO}_3\text{Na}$ (anionaktiv), Hexadecyltrimethylammoniumbromid $\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{CH}_3)_3\text{NBr}$ (kationaktiv) und FD 100, im wesentlichen ein Alkylpolyglykoläther $\text{C}_{12}\text{H}_{25}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_8\text{OH}$ (nicht ionogen)¹. Die Konzentrationen betragen 3×10^{-2} oder 3×10^{-3} mol. Sie lagen über der sog. kritischen Konzentration, bei der es in der Lösung zur Mizellbildung kommt. Während der gesamten Zeit der Resorption stand dadurch die größtmögliche Menge molekulargelöster Netzmittel zur Verfügung. Die langkettigen Alkyle der verwendeten Substanzen reagieren im Gegensatz zu ungesättigten Fettsäuren von Seifen nicht mit dem zur Fixierung benutzten OsO_4 .

Ergebnisse

1. Netzmittelgemisch in Ringerlösung. Zwischen dem Einfluß einer 0,9%igen NaCl-Lösung auf die Epithelstruktur, reiner Ringerlösung und Ringerlösung mit einem Netzmittelzusatz vorwiegend anionaktiver Substanzen (Pril) war kein eklatanter Unterschied zu erkennen. Die Beobachtung eines zufällig intra vitam verletzten Bürstensaums gab jedoch interessante Aufschlüsse. In allen verletzten Zellen waren die Mitochondrien extrem vergrößert und verformt, die Dichte ihrer Matrix war reduziert und die Cristae mitochondriales erschienen vorwiegend tubulär sowie aufgeweitet. Außerdem waren an den gleichen Zellen die Innenräume des endoplasmatischen Retikulums und in geringem Umfang auch die Golgi-Räume erweitert (Abb. 1). Die Dichte der zytoplasmatischen Matrix war durch den Einstrom von Flüssigkeit ebenfalls reduziert, während die Kerne nicht auffallend gequollen erschienen. Durch eine beginnende Entfaltung der äußeren Plasmamembranen zeigte sich eine Vergrößerung des Gesamtvolumens der verletzten Zellen an.

Der Einriß am Bürstensaum ist an anderer Stelle abgebildet worden (H. RUSKA 1960). Die beschriebenen Veränderungen beschränkten sich ausschließlich auf die verletzte Region des Epithels. Zerreißen, die am fixierten Gewebe oder bei der Polymerisation des Einbettungsmittels entstehen, zeigen sich nur als Kontinuitätstrennungen sonst unveränderter Zellstrukturen. Verletzungen des Bürstensaums bei der Aufnahme von reinem Wasser, die wir bei den früheren Untersuchungen gesehen haben, zeigten eine geringere und nach der Zelltiefe rasch abklingende

¹ Herrn Dr. W. KLING, Böhme Fettchemie Düsseldorf, danke ich für seine Beratung bei der Auswahl der Substanzen und für die Überlassung der Proben für die Versuche.

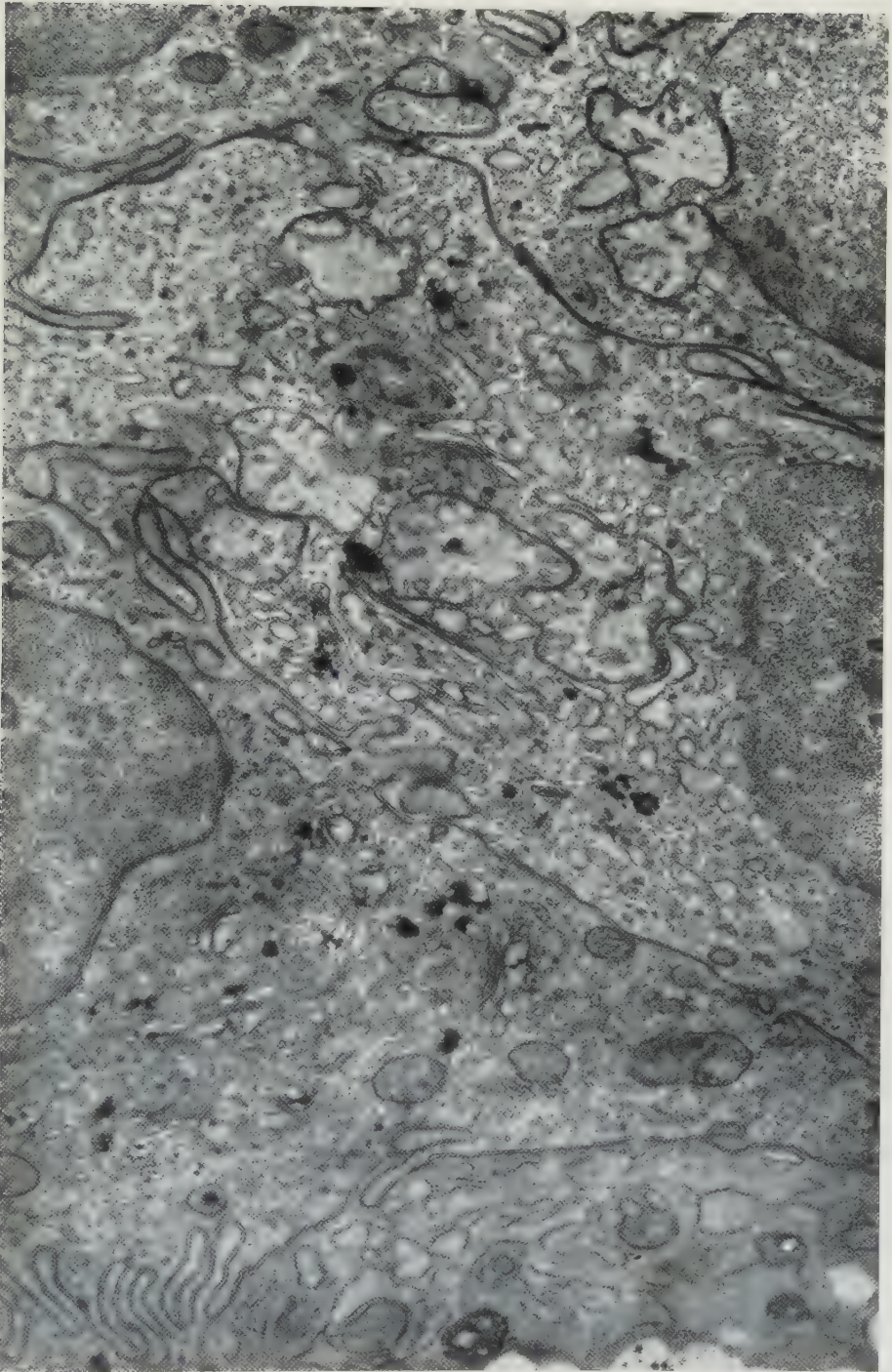


Abb. 1. Anschnitte von intakten und verletzten Saumzellen des Jejunums der Maus nach 10 min dauernder Einwirkung von Ringerlösung mit 1 % eines kommerziellen Netzmittels. Unten rechts Anschnitt einer Becherzelle, links gefaltete Plasmamembranen, darüber Golgi-Zone einer unverletzten Zelle. Mitte und oben rechts: Verletzte Zellen mit geschwollenen Mitochondrien, erweiterten Räumen des endoplasmatischen Retikulums und der Golgi-Zone. Vergrößerung 21 600:1

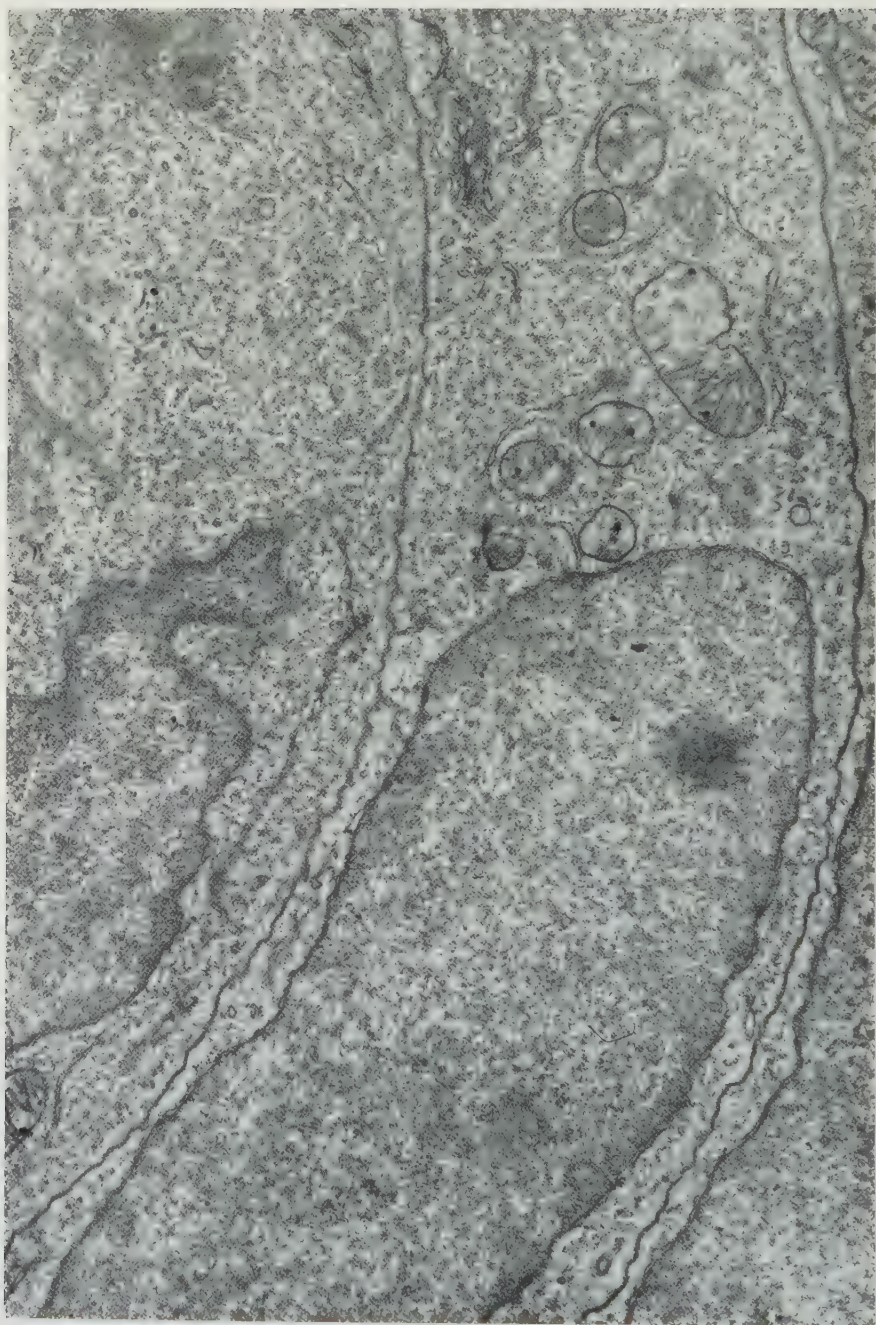


Abb. 2. Saumzellen des Jejunums der Maus nach 10 min dauernder Einwirkung von 3×10^{-2} mol Na-tetradecylsulfat (anionaktiv) in Aqua dest. Vergrößerung 17300:1

Schwellung der Mitochondrien sowie ein stärkeres Ausfließen des Zellinhalts in das Darmlumen. Eine Verletzung allein verursacht nach unseren Erfahrungen nicht

die in Abb. 1 gezeigten Veränderungen. Dies ergibt sich auch aus Beobachtungen an Muskelfasern, deren Verletzung vor der Fixierung in der Regel nicht zu vermeiden ist. Es scheint deshalb berechtigt, in den dargestellten Effekten im wesentlichen die Wirkung von Netzmitteln auf die intra vitam verletzten Zellen zu sehen.

Die Beobachtungen zeigen, daß die Netzmittel nur sehr langsam aus der Ringerlösung in die unverletzten Zellen eingedrungen sein können, da sich an

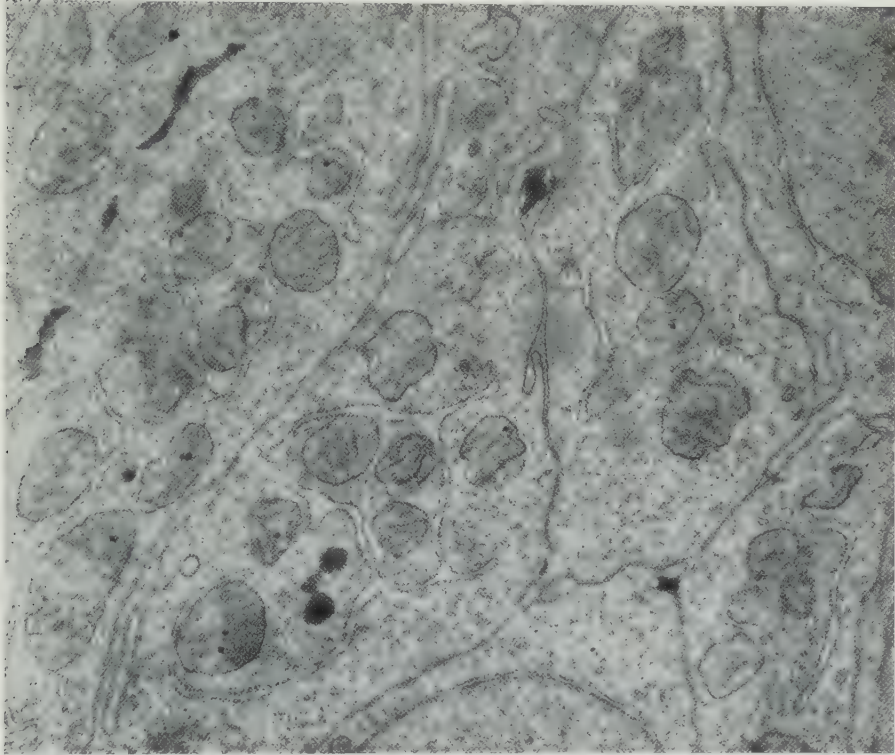


Abb. 3. Wie Abb. 2. Das endoplasmatische Retikulum ist weit und erstreckt sich kontinuierlich über weite Zellgebiete. Rechts oben am Kern Kontinuität von Retikulum und perinukleärer Zisterne. Stellenweise zwischen den Zellen resorbiertes Fett. Vergrößerung 17 300:1

deren Innenstrukturen keine Veränderungen nachweisen lassen, die mit den Erscheinungen an den verletzten Zellen vergleichbar wären. Es läßt sich hieraus auf eine geringe Einflußnahme der Netzmittel auf die Permeabilität des Bürstensaums schließen, dagegen auf eine starke Beeinflussung der Permeabilität der Mitochondrien-Membranen und der Membranen des endoplasmatischen Retikulums. Das Volumen der von diesen Membranen eingeschlossenen Räume hat sich um ein Vielfaches vergrößert. Das ist bei den Mitochondrien nur möglich, wenn gleichzeitig in den Membransubstanzen Verlagerungen vor sich gehen, die eine beträchtliche Verformung der Membranflächen erlauben. Je länger die Mitochondrien sind, zu desto größeren Kugeln können sie ohne Dehnung der Membranen anschwellen. Je kürzer sie sind, um so früher muß eine in bezug auf den relativen Volumenzuwachs gleiche Schwellung zur Zerreißung der äußeren Mitochondrienmembran führen.

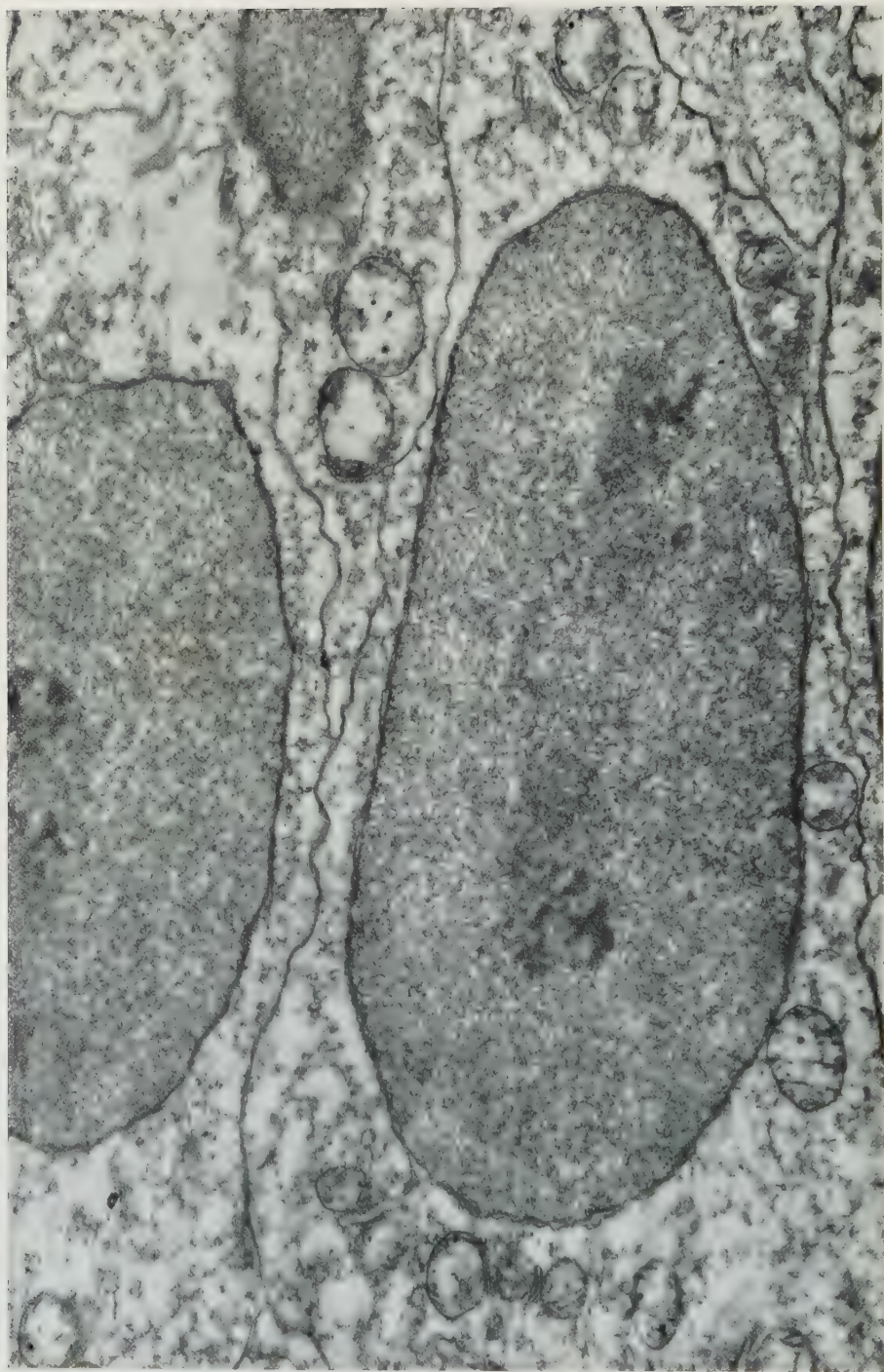


Abb. 4. Saumzellen des Jejunums der Maus nach 10 min dauernder Einwirkung von 3×10^{-3} mol Hexadecyltrimethylammoniumbromid (kationaktiv) in Aqua dest. Vergrößerung 17300:1

2. Na-Dodecylsulfat und Na-Tetradecylsulfat in destilliertem Wasser. Die reinen Netzmittel wurden in destilliertem Wasser gelöst, um die Aufnahme von Flüssigkeit in die Epithelzellen zu beschleunigen. Beide anionaktiven Substanzen bewirkten in den beiden Konzentrationen von 3×10^{-2} und 3×10^{-3} mol die gleichen Effekte: Zellstreckung, Schwellung der Mitochondrien, leichte Erweiterung der Innenräume des endoplasmatischen Retikulums und der Golgi-Zonen (Abb. 2). Außerdem war das Cytoplasma sehr regelmäßig und fein granuliert.

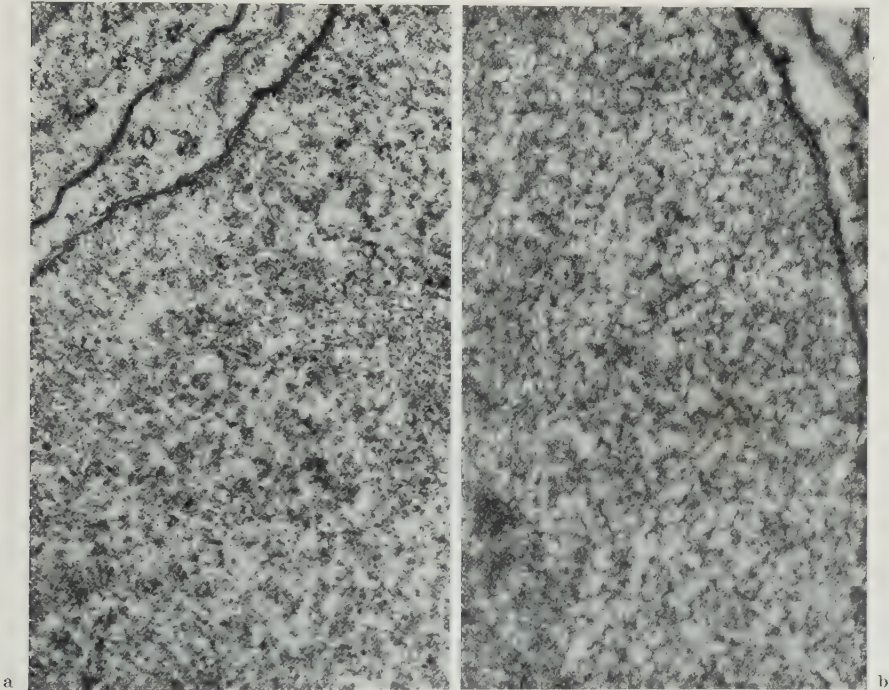


Abb. 5a u. b. Ausschnitte aus Abb. 2 und Abb. 4 zum Vergleich der Kernstruktur.
Vergrößerung 28800:1

Die Granula standen vorzugsweise in Gruppen, zum Teil der Außenfläche des Retikulums angelagert. Auffallend war nach der Aufnahme von Alkylsulfaten die gute Erhaltung und der hohe Grad von Kontinuität des endoplasmatischen Retikulums (Abb. 3).

Gegenüber den Versuchen mit reinem Wasser (C. RUSKA 1960) war die Zell- und Mitochondrienschwellung geringfügiger, aber gleichmäßiger. Die Entwicklung von Interzellularräumen fehlte fast völlig. Ebenso fehlten alle früher beschriebenen extremen Wasserwirkungen wie Überdehnung des Bürstensaumes, Membraneinrisse und stärkere Kernquellung.

3. Hexadecyltrimethylammoniumbromid in destilliertem Wasser. Ähnlich wie in den Versuchen mit Na-Alkylsulfaten waren die Zellen gestreckt und die Mitochondrien leicht geschwollen. In dem weitaus größten Teil der Aufnahmen war die Schwellung jedoch nur geringfügig. Häufiger zeigten sich Verklebungen der Cristae mitochondriales. Ferner waren die nach der Einwirkung der kationaktiven Substanz gewonnenen Bilder darin von den vorausgegangenen sehr

verschieden, daß die cytoplasmatischen Körnchen zu eng zusammengedrängten Haufen aggregiert waren, zwischen denen, von fädigen Strukturen überbrückt, substanzarme dielektronische Gebiete entstanden waren (Abb. 4). Das endoplasmatische Retikulum erschien spärlich, diskontinuierlich und wenig granuliert.

Eigenartig war das Aussehen der Kerne. Während in den Versuchen mit anionaktiven Substanzen die Kerne fein granuliert erschienen, wobei feine Körnchen häufig zu kurzen Linien, und diese wiederum mehrfach parallel angeordnet waren (Abb. 5, links), fehlte diese Strukturierung den Kernen nach Einwirkung der kationaktiven Substanz. Statt dessen erschien eine schaumartige Struktur (Abb. 5, rechts), in der sich nur noch selten eine Andeutung von Orientierung fand.

4. Alkylpolyglykoläther in destilliertem Wasser. Zellen, die dem nichtionogenen Präparat FD 100 ausgesetzt waren, ließen sich kaum von solchen unterscheiden, auf die das kationaktive Hexadecyltrimethylammoniumbromid eingewirkt hatte. Auch hier war neben den Folgen der Wasseraufnahme eine feine Ausflockung der cytoplasmatischen Granula und eine Vergrößerung der Kernstruktur entstanden (Abb. 6). Die Veränderungen waren aber insgesamt geringfügiger als nach der Aufnahme der kationaktiven Substanz.

Besprechung der Befunde

Durch Speisebrei, Verdauungssäfte und Zufluß von Galle besitzt der Darminhalt stets eine gegenüber reinem Wasser stark herabgesetzte Oberflächenspannung. Es kann daher als physiologisch angesehen werden, daß der Bürstensaum an eine Flüssigkeit niederer Oberflächenspannung grenzt. Seine Form wurde durch den Kontakt mit Netzmitteln nicht wesentlich beeinflusst.

Die früher beschriebenen Veränderungen, die beim Kontakt der Epithelzellen mit destilliertem Wasser eintreten, werden schon durch Netzmittelkonzentrationen von 3×10^{-3} mol sehr abgeschwächt. Es könnte dies auf einer Permeabilitäts-erhöhung der Zellmembranen beruhen, bei der sowohl Wasser leichter in die Zelle eintritt als auch osmotisch wirksame Stoffe rascher das Zellinnere verlassen. Beides würde zu einem leichteren Ausgleich osmotischer Druckdifferenzen und damit zu geringeren morphologischen Veränderungen führen. Am überlebenden Herzmuskel hat KLOTZBÜCHER (1949) nachgewiesen, daß Na-dodecylsulfat das Eindringen von Dextrose beschleunigt.

Die Wirkung der anionischen und kationischen Substanzen war in charakteristischer Weise verschieden. Das Netzmittelgemisch, in dem anionaktive Produkte überwiegen, und die anionaktiven Reinsubstanzen führten zur Mitochondrienschwellung und wirkten sich günstig auf die Erhaltung der Dispersität der feineren und feinsten Zellbestandteile aus. Bei der kationaktiven Substanz, aber auch bei der nichtionogenen zeigten sich aggregierende Wirkungen.

Da unsere Reinsubstanzen nur zum Teil die gleichen waren, die WITTER und MINK (1958) untersucht hatten, wurde die Wirkung unserer Substanzen auf frische Mitochondrien im Phasenkontrastmikroskop geprüft und mit den Angaben über Substanzen gleicher Ionogenität verglichen. Anstelle von gereinigten Mitochondrien der Rattenleber wurden die Mitochondrien der indirekten Flugmuskeln von Stubenfliegen in Quetschpräparaten verwendet. Die Flugmuskelmitochondrien sind größer als die Lebermitochondrien und mit keinerlei Partikeln

ähnlicher Abmessungen vergesellschaftet. Schon mit einem 40fachen Trockenobjektiv lassen sich Schwellungen sowie Aggregationen gut beurteilen.

Die Na-Alkylsulfate brachten die Mitochondrien zu beträchtlichen Schwellungen und in hoher Konzentration (1% in Ringerlösung wie im Vorversuch mit kommerziellen Netzmitteln) führten sie zur Auflösung. Das Hexadecyltrimethylammoniumbromid verhielt sich qualitativ wie das von WITTER und MINK verwendete Ketyl- bzw. Octyltrimethylammoniumchlorid. Es brachte die Mitochondrien zur Aggregation. Die von WITTER und MINK geprüften nichtionogenen Substanzen waren vorwiegend Polyoxyäthylen-Derivate, nicht ganz streng vergleichbar mit unserem Alkylpolyglykoläther. Es zeigte sich jedoch, daß die in den Darmversuchen verwendete Substanz wie die meisten der von den amerikanischen Autoren verwendeten nichtionogenen Detergentien die Mitochondrien weder zur Schwellung noch zur Verklumpung brachten.

Die in vivo-Versuche am Darm stimmen, soweit es die Mitochondrien betrifft, mit der in vitro-Versuchen an Lebermitochondrien bzw. an Mitochondrien der indirekten Flugmuskeln gut überein, wenn man berücksichtigt, daß sich die Aggregation von Mitochondrien in Zellen nicht so sinnfällig zeigen kann wie in Mitochondriensuspensionen. Die Versuche am Darm zeigen darüber hinaus aber noch weitere Erscheinungen am Cytoplasma und am Kern. Anionische Na-Alkylsulfate bewirken außer Schwellung der Mitochondrien eine vorzügliche Erhaltung der Zellstruktur, indem sie die Dispersität der cytoplasmatischen Granula und der fädigen Anordnungen im Kern stabilisieren und das endoplasmatische Retikulum sowie die perinukleäre Zisterne besonders gut zur Darstellung kommen lassen. Die aggregierende Wirkung des kationischen Hexadecyltrimethylammoniumbromids kann sich auf die Mitochondrien innerhalb der Zelle wenig auswirken. Es zeigt sich aber manchmal ein vergleichbarer Effekt in einer „Verklebung“ der Cristae mitochondriales. Im scharfen Gegensatz zum hohen Dispersitätsgrad der Kern- und Cytoplasmabestandteile in allen Versuchen mit anionaktiven Substanzen zeigt sich nach Einwirkung des kationaktiven Hexadecyltrimethylammionbromid die Struktur dieser Bestandteile verklumpt und das endoplasmatische Retikulum schlecht erhalten. Dem entspricht außer der aggregierenden Wirkung auf Mitochondriensuspensionen auch eine demulgierende Wirkung zahlreicher kationaktiver Substanzen auf die Milchfette (STINE und PATTON 1952). Interessant ist ferner im Zusammenhang mit der strukturerhaltenden, vielleicht sogar die Strukturbildung fördernden Wirkung von Na-Alkylsulfaten, daß nach KOMAROV, SHAY, SIPLET und GRUENSTEIN (1950) Konzentrationen von 0,1—0,5% Na-Dodecylsulfat alle sekretorischen Zellen der Magenschleimhaut stimulieren. Die strukturerhaltenden anionaktiven Substanzen sind außerdem wesentlich weniger toxisch als die kationaktiven (MENKE 1955), deren destruktive Wirkung auf die feinsten Zellstrukturen nachgewiesen wurde.

Wie durch die Sammelbezeichnung der untersuchten Substanzen ausgedrückt wird, wirken sie auf Grenzflächen. Für die Zellen sind dies Oberflächen der zytoplasmatischen Granula, der Kernstrukturen und der Membranen. Die lipophilen aliphatischen Ketten sind in den lipoidhaltigen Strukturbestandteilen leichter löslich als in den wäßrigen Mischphasen. Daher orientieren sie sich an den Grenzflächen mit den hydrophilen, ionogenen oder auch nicht ionogenen Gruppen gegen die wäßrige Phase, mit der hydrophoben $-\text{CH}_3$ -Endgruppe gegen die lipoiden

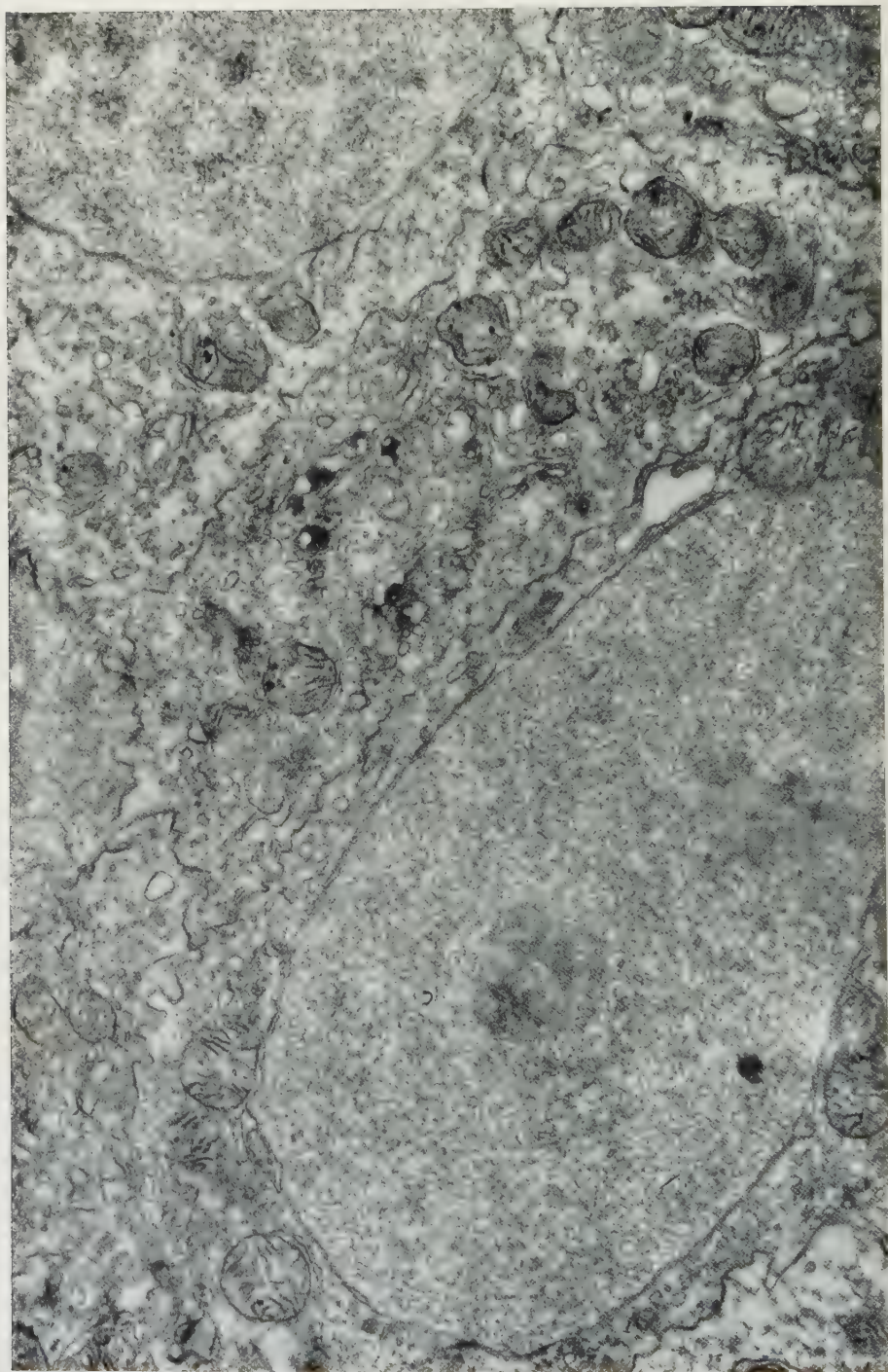


Abb. 6. Saumzellen des Jejunums der Maus nach 10 min dauernder Einwirkung von 3×10^{-3} mol eines Alkylpolyglykoläthers (nicht ionogen) in Aqua dest. Vergrößerung 17300:1

Phase. Gleichzeitig kommt es zu einer Anreicherung an der Grenzfläche, weil hier die Gesamtlöslichkeit höher ist als in einer der beiden Phasen allein. Bilden die Lipoide der Membranen eine zwischen 2 Proteinlagen orientierte Doppelschicht, die ihrerseits mit den hydrophilen Enden gegen die Proteinlagen orientiert sind, so gelangen die ionogenen Pole der Netzmittel in enge Beziehung zum Protein und können dort entgegengesetzte Ladungen neutralisieren.

Die beobachteten Erscheinungen fügen sich in die Vorstellungen über die Wirkungen der Netzmittel und bestätigen, daß die dispersen Bestandteile des Zellinnern bevorzugt Träger negativer Ladungen sind. Daher wirkt das kation-aktive Hexadecyltrimethylammoniumbromid außer auf Mitochondrien auch auf cytoplasmatische Granula aggregierend. Seine destruktive Wirkung auf das endoplasmatische Retikulum könnte damit zusammenhängen, daß dessen Membranen durch Membranpotentiale stabilisiert sind, deren auf der Seite der cytoplasmatischen Matrix negative Ladungen neutralisiert werden.

Aus den Eigenschaften der Netzmittel und deren sichtbar gewordenen Wirkungen läßt sich verstehen, daß sie Membraneigenschaften verändern und den Durchtritt von Wasser und gelösten Stoffen erleichtern, d.h. daß sie die Semi-permeabilität erhöhen und auch die selektive Permeabilität beeinflussen können. Die Veränderung der Membraneigenschaften durch Netzmittel muß nicht zu einem raschen Durchtritt der Netzmittel durch die Membran führen, da die oberflächenaktiven Substanzen durch 3, miteinander zusammenhängende, Faktoren an der Grenzschicht wäßrige Phase—Membran festgehalten werden: durch ihre Lipophilie, gegebenenfalls durch die elektrische Ladung und schließlich durch die an der Grenzschicht liegende, optimale Löslichkeit.

Wie sich die verschiedenen Membranen der Zelle im speziellen Fall verhalten, hängt von ihrem molekularen Bau ab und wohl auch von gelösten Komponenten der ihr angrenzenden wäßrigen Phasen. Beobachtet wurde: Stabilität gegenüber den Netzmitteln am Bürstensaum und an den äußeren Plasmamembranen der Zelle, Instabilität der Membranen des endoplasmatischen Retikulums gegenüber dem kationenaktiven Hexadecyltrimethylammoniumbromid und Permeabilitätsstörung bei Einwirkung der anionaktiven Alkylsulfate an den Mitochondrienmembranen.

Zusammenfassung

Es wird am Dünndarmepithel der Maus gezeigt, daß Na-Alkylsulfate (anion-aktiv) Mitochondrien zur Schwellung bringen, Kern- und Cytoplasmastrukturen in feinster Dispersion und das endoplasmatische Retikulum in ausgeprägter Kontinuität erhalten. Hexadecyltrimethylammoniumbromid (kationaktiv) führt zu keiner Mitochondrienschwellung, zu einer Destruktion des endoplasmatischen Retikulums und zu einer Strukturvergrößerung im Kern und in der cytoplasmatischen Matrix. Ein Alkylpolyglykoläther (nichtionogen) bewirkt ähnliche, aber geringfügigere Veränderungen der Zellstrukturen als die kationaktive Substanz.

Es wird versucht, die Beobachtungen entsprechend den Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus der Netzmittel aus ihrer erhöhten Löslichkeit an Grenzflächen und aus der Ionogenität der hydrophilen Gruppen zu deuten.

Literatur

- KLING, W.: Wasserlösliche, grenzflächenaktive Stoffe. *Angew. Chem.* **65**, 201—207 (1953).
- KLOTZBÜCHER, E.: Über die permeabilitätsfördernde Wirkung des dodecylsulfonsauren Natriums, eines Netzmittels, an der lebenden Zelle. *Dtsch. Z. Verdau.- u. Stoffwechselkr.* **9**, 222—234 (1949).
- KOMAROV, S. A., H. SHAY, H. SIPLET and M. GRUENSTEIN: A study of the effects and mechanism of action of sodium dodecylsulfate on gastric secretion in rats. *Brit. J. Pharmacol.* **5**, 1—8 (1950).
- MENKE, K.-H.: Über die biologische Wirkung wasserlöslicher, grenzflächenaktiver Stoffe. Inaug.-Diss. Bonn 1955.
- PUTNAM, F.-W., and H. NEURATH: Interaction between proteins and synthetic detergents. *J. biol. Chem.* **159**, 195—209 (1945).
- RUSKA, C.: Die Zellstrukturen des Dünndarmepithels in ihrer Abhängigkeit von der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Darminhalts. I. Wasser und Natriumchlorid. *Z. Zellforsch.* **52**, 748—777 (1960).
- RUSKA, H.: Der Einfluß der Elektronenmikroskopie auf die biologische Forschung. S.-B. der Ges. zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg 1960.
- STINE, C. M., and S. PATTON: Preparation of milk fat. *J. Dairy Sci.* **35**, 655—660 (1952).
- WILLS, E. D.: The effect of surface-active agents on pancreatic lipase. *Biochem. J.* **60**, 529—534 (1955).
- WITTER, R. F., and W. MINK: Effect of synthetic detergents on the swelling and the ATPase of mitochondria isolated from rat liver. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 73—82 (1958).
- CARLA RUSKA, Institut für Elektronenmikroskopie, Medizinische Akademie,
Düsseldorf, Moorenstr. 5

Autorenverzeichnis des 53. Bandes

- BARASA, A., Forma, grandezza e densità dei neuroni della corteccia cerebrale in mammiferi di grandezza corporea differente. S. 69
- BARGMANN, W., K. FLEISCHHAUER und A. KNOOP, Über die Morphologie der Milchsekretion. II. Zugleich eine Kritik am Schema der Sekretionsmorphologie. S. 545
- BARRY, J., et G. COTTE, Etude préliminaire, au microscope électronique, de l'émittance médiane du cobaye. S. 714
- CONTI, G., Sur la morphologie des cellules nerveuses ganglionnaires sympathiques au cours de différentes maladies. (Maladie de Bürger, maladie de Raynaud, gélures, mégadolichocôlon.) S. 492
- COTTE, G., s. BARRY, J. S. 714
- DANNEEL, R., und H. SCHUMANN, Die Wirkung des Triäthylmelamins (TEM) auf das Gewebe von Hühnerembryonen. S. 331
- DAVID, H., Über einen Nucleolus mit Membran. S. 50
- und L.-H. KETTLER, Degeneration von Lebermitochondrien nach Ammoniumintoxikation. S. 857
- DJACZENKO, W. s. GRONIEWSKI, J. S. 639
- DUBOIS, A. M., et A. GONET, Régénération des îlots de Langerhans, au cours de la correction du diabète expérimental du rat par bréploplastie pancréatique. S. 481
- EAKIN, R. M., W. B. QUAY, and J. A. WESTFALL, Cytochemical and cytological studies of the parietal eye of the lizard, *Sceloporus occidentalis*. S. 449
- EPPLE, A., Über Beziehungen zwischen Feinbau und Jahresperiodik des Inselorgans von Vögeln. S. 731
- FARNER, D. S. s. KOBAYASHI, H. S. 1
- FERNANDES, M. V., and C. M. POMERAT, Cytopathogenic effects of rabies virus on nervous tissue *in vitro*. S. 431
- FJERDINGSTAD, E. J., The ultrastructure of choanocyte collars in *Spongilla lacustris* (L.). S. 645
- FLEISCHHAUER, K., Über Gefäßpaare im Gehirn der Katze. S. 323
- s. BARGMANN, W. und A. KNOOP. S. 545
- GONET, A. s. DUBOIS, A. M. S. 481
- GRONIEWSKI, J., und W. DJACZENKO, Die Feinstruktur des Lungengewebes nach dem Beginn der Atmung. S. 639
- HEITZ, E., Das lamellare Dünn-Dick-Muster der Chloroplasten von *Chlamydomonas*, *Euglena*, *Fucus*, *Vaucheria*. S. 444
- HÖHLING, H.-J., Elektronenmikroskopische Untersuchungen am gesunden und kariösen Dentin mit Hilfe der Abdruckmethode und der Schnittmethode an kompakter, nichtentmineralisierter Substanz. S. 192
- HOFKIN, G. A. s. LEVEQUE, T. F. S. 185
- IMAI, CH. s. SANO, Y. S. 471
- IURATO, S., Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. 2. The epithelium of CORTI's organ. S. 259
- KAYE, G. I., G. D. PAPPAS, G. YASUZUMI und H. YAMAMOTO, The distribution and form of the endoplasmic reticulum during spermatogenesis in the crayfish, *Cambairides japonicus*. S. 159
- s. YASUZUMI, G., G. D. PAPPAS, H. YAMAMOTO and I. TSUBO. S. 141
- KETTLER, L.-H. s. DAVID, H. S. 857
- KNESE, K.-H., und A.-M. KNOOP, Über den Ort der Bildung des Mukopolysaccharid-proteinkomplexes im Knorpelgewebe. Elektronenmikroskopische und histochemische Untersuchungen. S. 201
- KNOOP, A. s. BARGMANN, W. und K. FLEISCHHAUER. S. 545
- s. RÖHLICH, P. S. 299
- KNOOP, A.-M. s. KNESE, K.-H. S. 201
- KOBAYASHI, H., and D. S. FARNER, The effect of photoperiodic stimulation on phosphatase activity in the hypothalamo-hypophysial system of the white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambelii*. S. 1
- LANGE, R., Zur Histologie und Zytologie der Glandula parathyroidea des Menschen. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Epithelkörperadenomen. S. 765
- LEVEQUE, T. F., and G. A. HOFKIN, Demonstration of an alcohol-chloroform insoluble periodic acid-schiff reactive substance in the hypothalamus of the rat. S. 185

- MERKER, H.-J., Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in der Haut menschlicher Embryonen. S. 411
- MOERICKE, V., und K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN, Zur funktionellen Morphologie der Speicheldrüsen von Homopteren. IV. Mitteilung. Die Ausführungsgänge der Speicheldrüsen von *Myzus persicae* (SULZ), *Aphididae*. S. 25
- PAPPAS, G. D. s. KAYE, G. I., G. YASUZUMI und H. YAMAMOTO. S. 159
- s. YASUZUMI, G., G. I. KAYE, H. YAMAMOTO and I. TSUBO. S. 141
- PEDERSEN, K. J., Studies on the nature of planarian connective tissue. S. 569
- Some observations on the fine structure of planarian protonephridia and gastrodermal phagocytes. S. 609
- PETRY, G., Histotopographische und cytologische Studien an den Embryonalhüllen der Katze. S. 339
- POMERAT, C. M. s. FERNANDES, M. V. S. 431
- QUAY, W. B. s. EAKIN, R. M. and J. A. WESTFALL. S. 449
- RERABEK, J., Cell growth on Hydrophobic substrates. S. 313
- ROBINSON, R. A. s. SHELDON, H. S. 671, 685
- RÖHLICH, P., und A. KNOOP, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Hüllen des N. ischiadicus der Ratte. S. 299
- RUSKA, C., Die Zellstruktur des Dünndarm-epithels in ihrer Abhängigkeit von der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Darminhalts. II. Wasserlösliche, grenzflächenaktive Stoffe. S. 867
- und H. RUSKA, Die Cuticula der Epidermis des Regenwurms (*Lumbricus terrestris* L.). S. 759
- RUSKA, H. s. RUSKA, C. S. 759
- SANO, Y., und CH. IMAI, Über ein blutbildendes Organ in der Sella turcica des Riesensalamanders (*Megalobatrachus japonicus*). S. 471
- SCHMIDT, W. s. STAUBESAND, J. S. 55
- SCHMIDT, W. J., Polarisationsoptischer Nachweis kristalliner fettartiger Stoffe im Haarmark. S. 629
- , Über Resorption von Lepido- und Actinotrichien nach Flossenverletzung bei der Schmerle (*Nemachilus barbatula* L.). S. 725
- SCHUMANN, H. s. DANNEEL, R. S. 331
- SHELDON, H., and R. A. ROBINSON, Studies on rickets. I. The fine structure of uncalcified bone matrix in experimental rickets. S. 671
- SHELDON, H., and R. A. ROBINSON, Studies on rickets. II. The fine structure of the cellular components of bone in experimental rickets. S. 685
- STAUBESAND, J., und W. SCHMIDT, Zur Histophysiologie des Herzbeutels. I. Mitteilung. Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Deckzellen des Pericard und Epikards. S. 55
- STEGNER, H.-E., und H. WARTENBERG, Elektronenmikroskopische und histotopochemische Untersuchungen über Struktur und Bildung der Zona pellucida menschlicher Eizellen. S. 702
- TANAKA, K., Zur polarisationsoptischen Analyse der Knochenlamellensysteme des Menschen. S. 438
- TSUBO, I. s. YASUZUMI, G., G. I. KAYE, G. D. PAPPAS and H. YAMAMOTO. S. 141
- WALTER, P., Die sensible Innervation des Lippen-Nasenbereiches von Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund und Katze. Zur Frage der Zugehörigkeit von Empfindungsqualitäten zu bestimmten Rezeptoren des Tastsinnes. S. 394
- WARTENBERG, H. s. STEGNER, H.-E. S. 702
- WENDT, E., Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf das Zentroplasma und die Cytosomen von Gewebekulturzellen. S. 172
- WESTFALL, J. A. s. EAKIN, R. M. and W. B. QUAY. S. 449
- WÖLKER, G., Histologische Untersuchungen über die Phenolrotausscheidung während der kompensatorischen Hypertrophie der Rattenniere. S. 658
- WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E. s. MOERICKE, V. S. 25
- WOLFF, H., Entwicklungsgeschichtliche, histochemische und experimentelle Untersuchungen an den Brunnerschen Drüsen des Kaninchens. S. 829
- WRBA, H., Vitalitätsbestimmung durch Aufnahme und Umsatz markierter Verbindungen. S. 90
- YAMAMOTO, H. s. KAYE, G. I., G. D. PAPPAS and G. YASUZUMI. S. 159
- s. YASUZUMI, G., G. I. KAYE, G. D. PAPPAS and I. TSUBO. S. 141
- YASUZUMI, G., G. I. KAYE, G. D. PAPPAS, H. YAMAMOTO and I. TSUBO, Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of the crayfish, *Cambaroides japonicus*. S. 141
- s. KAYE, G. I., G. D. PAPPAS and H. YAMAMOTO. S. 159

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.
2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten, rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich (möglichst in Maschinenschrift) geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern beizufügen. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zwecks Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn mit ihnen ein neuer Gedankengang beginnt.
2. Die Arbeiten müssen *kurz* und stilistisch einwandfrei geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen“, Handbüchern) herzustellen.
3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.
4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, die in einer der Kongreßsprachen abgefaßt sein kann.
5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knapper Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote daraufhinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.
6. Die *Abbildungen* sind auf das unbedingt Notwendige zu beschränken. Kurven, Diagramme usw., die nur zur Illustration von Befunden dienen und ohne weiteres im Text beschrieben werden können, werden zurückgewiesen. Knappe, klare Abbildungsunterschriften (Legenden) erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Sie sind getrennt von den Abbildungen dem Manuskript im Anschluß an das Literaturverzeichnis beizufügen. Unzulässig ist die *doppelte* Darstellung in Abbildung und Kurve. Bereits veröffentlichte Abbildungen können nicht wiederholt werden. Ausnahmen hiervon sind nur in besonders begründeten Fällen möglich. *Farbige* Bilder können in der Regel keine Aufnahme finden. Für Kurven oder Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzung reproduziert werden können, genügt die Ablieferung sauberer, klarer Skizzen, die vom Verlag umgezeichnet werden. Bei Halbtonebildern (Photos, Mikrophotos, Halbtonezeichnungen) sind saubere, scharfe und tonwertreiche Originalvorlagen (Hochglanzabzüge von Originalphotographien) notwendig. Besondere Wünsche des Autors hinsichtlich des linearen Verkleinerungs- und Vergrößerungsmaßstabes der Vorlagen sollen vermerkt werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben sollen Autorennamen, vollständigen Titel der Arbeit, Zeitschrift, Band- und Seitenzahl sowie Jahreszahl umfassen [z.B. Böke, W.: Untersuchungen des Linsenepithels mit dem Phasenkontrastmikroskop. Z. Zellforsch. 38, 428—454 (1953)]. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen alphabetisch anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammern gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Methodik, Protokolle und weniger wichtige Teile des Textes sind für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

10. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig sind einzeilige Fußnoten mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt und geleitet oder wer die Mittel dazu gegeben hat. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.



Seit Januar 1961 erscheint :

KYBERNETIK

Zeitschrift für Nachrichtenübertragung, Nachrichtenverarbeitung, Steuerung und Regelung im Organismus und in Automaten
A Journal Dealing with the Transmission and Processing of Information as well as with Control Processes in Both Organisms and Automata

Herausgegeben von / Edited by

H. B. BARLOW, Cambridge/England · M. HALLE, Cambridge/Mass. ·
B. HASSENSTEIN, Freiburg i. Br. · W. D. KEIDEL, Erlangen · I. KOHLER,
Innsbruck · K. KÜPFMÜLLER, Darmstadt · H. MITTELSTAEDT, Seewiesen/
Obb. · W. REICHARDT, Tübingen · W. A. ROSENBLITH, Cambridge/
Mass. · J. F. SCHOUTEN, Eindhoven · M. SCHÜTZENBERGER, Poitiers ·
K. STEINBUCH, Karlsruhe · N. WIENER, Cambridge/Mass.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften und enthält Beiträge in englischer und deutscher Sprache. Maximal-Preis für 1961: DM 80,—

Band 1 / Heft 1

Mit 72 Abbildungen. 56 Seiten (davon 9 Seiten in englischer Sprache). DIN A 4. 1961.
DM 12,80

INHALTSVERZEICHNIS.

Über die Nachrichtenverarbeitung in der Nervenzelle. Von K. KÜPFMÜLLER und F. JENIK · Die Lichtreaktionen von *Phycomyces*. Von W. REICHARDT · Schwingungsanalyse der vestibulär, optokinetisch und durch elektrische Reizung ausgelösten Augenbewegungen beim Menschen. 1. Mitt.: Stetige Augenbewegungen: Frequenzgänge und Ortskurven. Von D. TRINCKER, J. SIEBER und J. BARTUAL · Der sogenannte „innere“ Regelkreis der Willkürbewegung. Von G. VOSSIUS · Über die Erkennungszeit beim Lesen. Von F. WENZEL · Die Lernmatrix. Von K. STEINBUCH · Letter constraints within words in printed English. By D. H. CARSON · Pawlow und sein Hund. Ein Demonstrationsmodell für den „bedingten Reflex“. Von I. KOHLER.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG